

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**Niveles de Apolipoproteína-B séricos, como indicador de riesgo coronario  
en individuos de altura y del nivel del mar**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**AUTOR**

**Miguel Angel Pantoja Napa**

**ASESOR**

**Elizabeth Gonzales Loayza**

**Lima – Perú**

**2013**

## **DEDICATORIA**

Dedico la presente tesis:

A Dios, por mostrarnos día a día que con paciencia, humildad y dedicación todo es posible.

A mis padres, por el esfuerzo que hicieron por darme una profesión y hacerme una persona de bien y por ellos soy lo que soy.

A mis hermanos, por el apoyo incondicional y en todo momento en que los necesité, nunca escuché un NO.

A mi hija, por ser el motor y la razón de todo lo que hago. Para ti bebé por siempre poner en mi rostro una sonrisa.

Y por supuesto a mi asesora, Dra. Elizabeth que a pesar de todo lo pasado siempre confió en mí y lo sigue haciendo.

Mi eterna gratitud a los distinguidos integrantes del Jurado calificador de mi sustentación: Q.F. Haydee Zúñiga Cáceres, Dr. Juan Parreño Tipián, Mg. María Elena Salazar Salvatierra y M.C. José Ortiz Rodríguez.

Una mención muy especial para una persona que ya no está con nosotros pero de la que siempre recibí voces de ánimo, para Ud. Dra. Luz.

Finalmente para las 2 mujeres, que después de mis padres, me enseñaron la disciplina, la perseverancia y la fortaleza ante cualquier situación. Gracias Chelita y Florencia, mis abuelitas que desde el cielo siempre me acompañan.

Gracias.

## RESUMEN

En el presente estudio se determinó las concentraciones de Apolipoproteína-B como indicador de riesgo coronario en poblaciones rurales de la altura de Cerro de Pasco a 4340 msnm y en poblaciones urbanas de nivel del mar de Lima a 25 msnm.

La cuantificación de esta proteína estructural de las lipoproteínas aterogénicas, y su concentración, es un reflejo del número de las partículas aterogénicas presentes.

Las concentraciones séricas de la Apolipoproteína-B (Apo-B) fueron estudiadas en 51 sujetos con edades entre 22 y 48 años de Cerro de Pasco; y de 48 sujetos con edades entre 23 y 50 años de Lima.

Se realizaron mediciones mediante Test Enzimáticos para el Colesterol Total, Triglicéridos, HDL-Colesterol, LDL-Colesterol; y Test Inmunoturbidimétrico para el Apo-B.

Los valores hallados de Apo-B  $\pm$ DS para la población de Cerro de Pasco fue de  $109.39 \pm 25.18$  mg% y para la población de Lima fue de  $106.3 \pm 33.12$  mg%, lo que nos indica una elevación de los niveles de ésta Apolipoproteína, que no se esperaba en esta población, y que refleja el cambio de los hábitos dietarios, sobre todo en la ingesta de carbohidratos y lípidos.

La Correlación entre la Apo-B y el LDL-Colesterol fue de 0.9196 para la población de Cerro de Pasco y de 0.8932 para la población de Lima, lo que nos indica que ambos parámetros se encuentran estrechamente ligados en cuanto a cantidad y por ende en cuanto a consecuencias para el riesgo cardiovascular evaluado.

Palabras Clave: Lipoproteína, Apolipoproteína-B (Apo-B), Riesgo coronario, Aterosclerosis.

## SUMMARY

The present study determined the concentrations of apolipoprotein-B as an indicator of coronary risk in rural populations of the height of Cerro de Pasco to 4340 msnm and urban populations of the level of the sea of Lima at 25 meters.

The quantification of this structural protein of atherogenic lipoproteins, and its concentration, is a reflection of the number of particles present atherogenic.

Serum concentrations of apolipoprotein-B (Apo-B) were studied in 51 subjects aged between 22 and 48 years of Cerro de Pasco; and of 48 subjects aged between 23 and 50 years of Lima.

Se they were measured by enzymatic Test for Total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol; and Test Inmunoturbidimétrico to Apo-B. The found values of Apo-B  $\pm$ DS for the town of Cerro de Pasco was  $109.39 \pm 25.18$  mg % and for the population of Lima was  $106.3 \pm 33.12$  mg %, which indicates a rise in the levels of this apolipoprotein, which was not expected in this population, and reflecting the change of habits dietary, especially in the intake of carbohydrates and lipids.

The correlation between the Apo-B and LDL-cholesterol was 0.9196 for the population of Cerro de Pasco and 0.8932 for the population of Lima, which tells us that both parameters are closely linked in terms of quantity and hence in terms of consequences for the evaluated cardiovascular risk.

Key words: Lipoprotein, apolipoprotein-B (Apo-B), coronary risk and atherosclerosis.

## INDICE

### RESUMEN

### SUMMARY

<b>I – INTRODUCCION</b>	<b>01</b>
<b>II – GENERALIDADES</b>	<b>04</b>
1- ATEROSCLEROSIS	04
2- ANATOMIA ARTERIAL CORONARIA	06
3- ELEMENTOS CELULARES EN EL DESARROLLO DE LA ATEROSCLEROSIS	07
4- NUEVOS FACTORES DE RIESGO ATEROGENICO	13
5- LIPOPROTEINAS	23
6- RECEPTORES DE LIPOPROTEINAS	24
7- SISTEMAS ENZIMATICOS	25
8- METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS	26
9- APOLIPOPROTEINAS	29
<b>III – PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>34</b>
1- MATERIAL BIOLOGICO HUMANO	34
2- METODOS Y TECNICAS – REACTIVOS	34
3- DETERMINACION DE COLESTEROL TOTAL	37
4- DETERMINACION DE TRIGLICERIDOS	39
5- DETERMINACION DE HDL	41
6- DETERMINACION DE LDL	44
7- DETERMINACION DE Apo-B	47

<b>IV – RESULTADOS</b>	<b>50</b>
<b>1- ESTADISTICA DESCRIPTIVA</b>	<b>51</b>
<b>V – DISCUSION</b>	<b>61</b>
<b>VI – CONCLUSIONES</b>	<b>64</b>
<b>VII – REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.</b>	<b>65</b>

## **Abreviaturas**

<b>IDL</b>	Lipoproteína de densidad intermedia.
<b>HDL</b>	Lipoproteína de Alta densidad.
<b>LDL</b>	Lipoproteína de Baja densidad.
<b>Apo-B</b>	Apolipoproteína B.
<b>DS</b>	Desviación Standart.
<b>CT</b>	Colesterol Total.
<b>TG</b>	Triglicéridos.
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de muy baja densidad.
<b>PAI-1</b>	Inhibidor del Activador del Plasminógeno.
<b>IL1</b>	Interleucina 1.
<b>FCDP</b>	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
<b>FCE</b>	Factor de crecimiento epidérmico.
<b>FCF</b>	Factor de crecimiento del Fibroblasto.
<b>FCB</b>	Factor de crecimiento beta.
<b>FECM-M</b>	Factor estimulante de colonias Monocito-Macrófago.
<b>EDRF</b>	Factor de Relajación derivado del Endotelio.
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva.
<b>EAC</b>	Enfermedad arterial coronaria.
<b>tPA</b>	Activador tisular del Plasminógeno.
<b>TRH</b>	Terapia de remplazo hormonal.
<b>TSH</b>	Hormona estimuladora de Tiroides.
<b>ON</b>	Oxido nítrico.
<b>CEPT</b>	Proteína transportadora de Colesterol ester.
<b>FEPT</b>	Proteína transportadora de Fosfolípidos.
<b>AGNE</b>	Acidos grasos no esterificados.

## **I - INTRODUCCIÓN**

La aterosclerosis es una alteración multifactorial en la que se han identificado un gran número de factores de riesgo tanto genético como ambientales. Los factores de riesgo modificables clásicos como: la diabetes, el tabaquismo, la obesidad, la hipertensión y la hipercolesterolemia son responsables de la mayoría de los casos.

La aterosclerosis es actualmente la enfermedad más crítica de la civilización, y la presencia de determinados factores de riesgo, tales como el incremento de los lípidos sanguíneos ejerce una mayor influencia en la aparición de complicaciones e incluso de la muerte en los pacientes que la padecen.

La mayoría de los estudios sobre Metabolismo Lipídico y Riesgo Coronario, se basan en la determinación de las concentraciones de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), HDL-colesterol y LDL-colesterol.

Simons plantea que los factores de riesgo coronario varían considerablemente de un país a otro, y que la mortalidad cardiovascular se relaciona con los diferentes niveles de Colesterol en la población (1), asimismo plantea que un incremento del colesterol del 1% se acompaña de un incremento en el 2% de la enfermedad cardiovascular, y que los triglicéridos sólo constituyen un factor de riesgo para las mujeres (1).

En el año 1979, P. Avogaro fue el primero en demostrar la utilidad de la determinación de la apolipoproteínas para identificar sujetos con elevado riesgo cardiovascular. La determinación de Apo-B es un marcador específico para distinguir las anormalidades en el metabolismo lipídico.



Amoris en el año 2001, reporta una investigación de corte longitudinal por espacio de 5 años demostrando que Apo-B es mejor factor predictivo de riesgo coronario que el LDL-colesterol.

Sorell y Desager et al, hallaron que LDL-colesterol y Apo-B son los mejores predictores de la severidad de las cardiopatías, por el alto grado de correlación entre estos dos parámetros (2,3).

En el mundo más de 40 millones de personas viven en lugares por encima de los 3 000 msnm. Han pasado más de 70 años desde la primera expedición científica peruana a los Andes, guiados por el profesor Carlos Monge Medrano; desde entonces mucho se ha avanzado y se ha incursionado en temas como el metabolismo y perfil lipídico de los habitantes nativos de estas localidades (4).

Con el fin de determinar el comportamiento de los lípidos, se determinó, y comparó los valores del Perfil lipídico de habitantes de altura, previa firma de consentimiento y habiéndoles informado todo en cuanto al procedimiento, de ambos sexos, entre las edades de 22 a 48 años, estudiantes en su mayoría de la unidad de postgrado de la Universidad del Centro (Cerro de Pasco). A ambos grupos se les determinó y analizó los valores de colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL y Apo-B; y de habitantes de la ciudad de Lima, cuyas muestras se recolectaron en un centro de diagnóstico local conocido (Laboratorios Medlab del Perú), a personas de ambos sexos con edades de 22 a 48 años, los cuales fueron sometidos al mismo protocolo de análisis de perfil lipídico que para los habitantes de altura. Con el fin de determinar los niveles séricos de apolipoproteína B, como indicador de riesgo coronario para ambas poblaciones.

Para todas las determinaciones se harían mediante métodos enzimáticos, excepto la determinación de la Apo-B, que se determinó mediante el método Turbidimétrico estandarizado por Laboratorios Roche- Diagnóstica (5).

Los cálculos estadísticos se realizaron mediante T-student y las correlaciones de Pearson's.

Para determinar el riesgo coronario, se utilizó el Índice LDL/HDL $<3.5$ , recomendado por la UPCH, por ser la más aceptada en nuestro medio y la que mejores resultados predictivos ha llevado a conocer (6).

Los objetivos del presente trabajo son:

1. Determinar los niveles séricos de Apo-B en sujetos nativos de altura, hombres y mujeres entre 20 y 40 años de edad y compararlos con la de los habitantes nativos de nivel del mar.
2. Establecer la relación entre los niveles de Apo-B séricos y el riesgo coronario determinados para ambas poblaciones.
3. Establecer desde un punto de vista bioquímico y metabólico, los alcances de la Apo-B, como factor importante y determinante, de riesgo coronario y aterogénesis, en ambas poblaciones.

## **II - GENERALIDADES**

### **I - ATEROSCLEROSIS.**

La aterosclerosis puede considerarse como un proceso multifactorial, en el que intervienen factores ambientales y genéticos. El conocimiento acerca de sus manifestaciones clínicas ha evolucionado rápidamente en los últimos años; cualquier hipótesis para explicar la patogenia de la aterosclerosis se modificará, sin embargo, al disponer en el futuro de mayor información al respecto (7).

Es una enfermedad de evolución crónica, caracterizada por la formación de placas de tejido fibroso y elementos lipídicos con el concurso de la adherencia plaquetaria en el endotelio de las arterias.

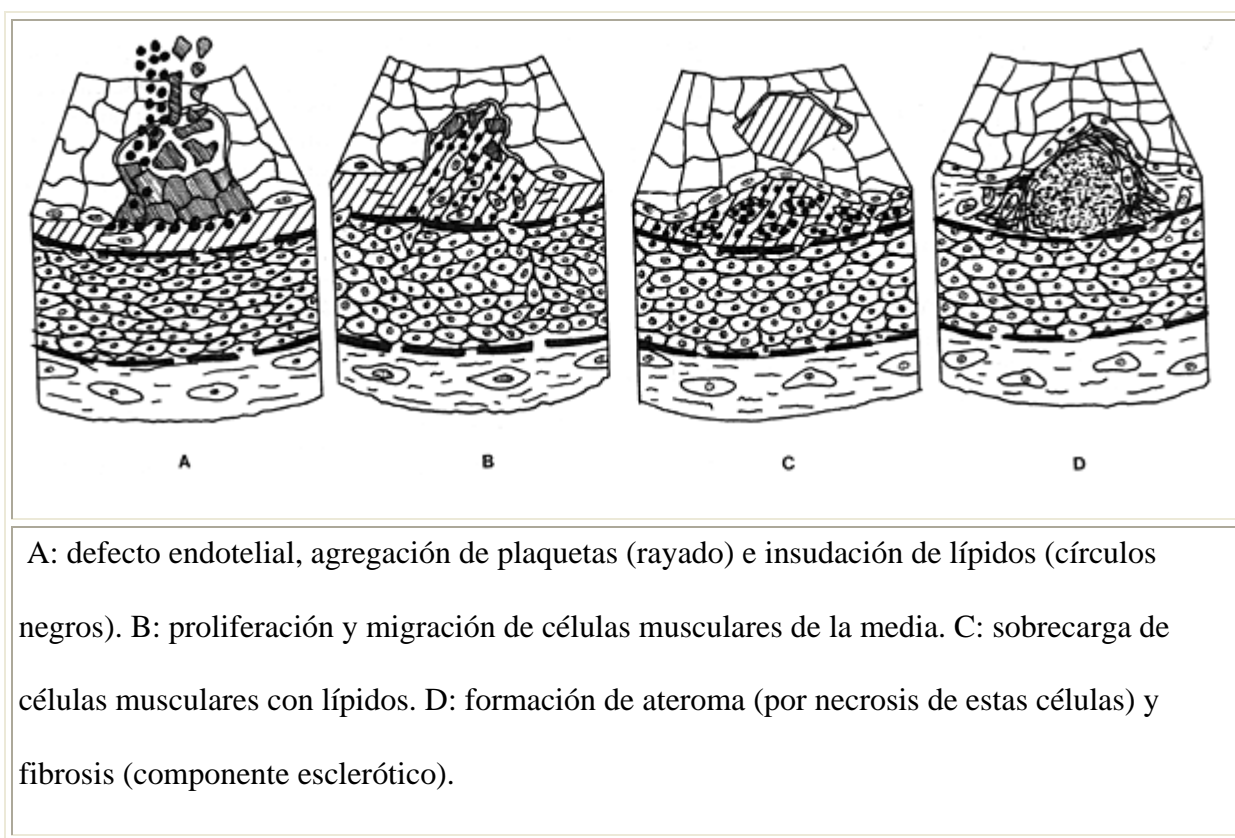
Desde 1852 Von Rokitansky propuso la hipótesis de la “incrustación”, modificada por Duguid un siglo después (8). Describieron las alteraciones como un engrosamiento de la íntima arterial por depósito de fibrina, como una organización fibroblástica y la acumulación secundaria de lípidos.

En 1856, Virchow, propuso la hipótesis de la “inducción” lipídica que señala que los lípidos se adhieren a la pared arterial con formación de complejos mucopolisacáridos ácidos, con la distorsión del proceso cicatricial vascular (9).

En 1976 las dos hipótesis anteriormente descritas fueron fusionadas en una por Ross quien le llamó la hipótesis de la “respuesta a la lesión”, actualmente considerada vigente para explicar la iniciación del proceso ateroscleroso (10).

Actualmente la hipótesis mas aceptada es que la aterogénesis se desarrolla tras la lesión de las células endoteliales de la íntima por agentes químicos (hipercolesterolemia crónica, homocisteinemia, etc.), por lesión mecánica (hipertensión arterial) y/o lesión inmunológica (trasplante cardíaco o renal).

**Fig.1 – Patogenia de la placa aterosclerótica (77).**



Fuente: Lecciones de Anatomía Patológica-Aterosclerosis. Dr. Benedicto Chuaqui. Pontificia Universidad Católica de Chile.2003

Hoy en día también se sabe, que desde etapas tempranas de la vida es posible encontrar, en material de necropsia, depósitos de lípidos en el interior de las arterias, caracterizados como estrías grasas y como precursores del proceso ateroscleroso(11). Estas pequeñas alteraciones anatómicas e histológicas de la enfermedad, evolucionan lentamente y generalmente son el principio de un padecimiento que puede llegar a producir una obstrucción significativa de las arterias coronarias (12).

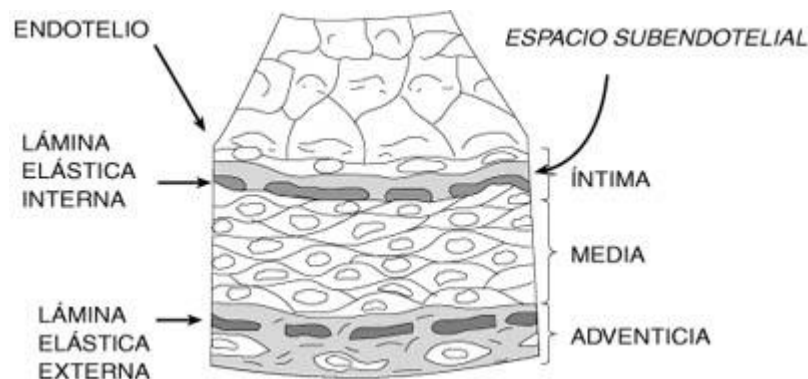
Se acepta que la lesión inicial de la aterosclerosis es la estría grasa microscópicamente identificada como una mancha o raya amarilla en la íntima de las arterias formada por células espumosas y que protruyen en la luz del vaso. La estría grasa puede progresar al siguiente estadio denominado placa fibrosa que consiste en una elevación de la capa íntima que contiene un núcleo central amorfo y amarillento llamado ateroma. Mientras que los macrófagos son el principal constituyente de la estría grasa, las placas fibrosas están formadas fundamentalmente por células musculares lisas. Durante la aterogénesis los ésteres de colesterol que penetran en la pared son fagocitados por macrófagos formándose las llamadas células espumosas.

## **II- ANATOMIA ARTERIAL CORONARIA**

La pared arterial está formada de adentro hacia afuera, por un delgado revestimiento endotelial que se adosa finamente a una membrana basal, debajo de la cual está el espacio subendotelial, sitio en el cual se lleva a cabo el proceso ateroscleroso. Esta capa es conocida como la íntima la cual termina hacia fuera en la lámina elástica interna, como característica anatómica presenta fenestraciones que permiten el paso de macromoléculas y células entre la íntima y la capa media, esta última constituída por células musculares lisas,

cuya función principal es la contracción; está limitada hacia fuera por la lámina elástica externa, la cual es rodeada, por la capa mas externa conocida como adventicia (13).

**Fig.2.Anatomía arterial coronaria. (7)**



Fuente: Programa de actualización continua para Cardiología-Fisiopatología de la Aterosclerosis. Dr. Sergio González Romero. Dr. Scope.2003.

### **III- ELEMENTOS CELULARES EN EL DESARROLLO DE LA ATEROGENESIS.**

#### **1-ENDOTELIO**

Está presente en todo el árbol arterial como una fina capa celular, de superficie continua y representa la principal barrera entre los elementos celulares sanguíneos y la pared arterial. El endotelio posee una importante capacidad selectiva en su permeabilidad,

su superficie es no trombótica, tiene también una elevada actividad metabólica por lo que sintetiza sustancias vasoactivas. Su actividad procoagulante se observa solamente cuando sufre una lesión. El endotelio puede transportar también varias sustancias por endocitosis hacia el torrente sanguíneo o hacia la pared vascular (14).

El endotelio, cuando se lesiona pierde su capacidad productora de estas sustancias y secreta hacia la luz arterial el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y de la interleucina-1 (IL-1), además de secretar sustancias al espacio subendotelial como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP) y el factor de crecimiento epidérmico (FCE), sustancias que favorecen y perpetúan la lesión aterosclerosa (15).

Se ha demostrado que en el paciente con hipercolesterolemia, existe disfunción endotelial, desde antes del desarrollo de lesiones localizadas en la íntima. Tal situación en el humano parece estar más relacionada con la relación LDL/HDL, que con los niveles absolutos de LDL colesterol, situación que viene a confirmar el papel protector de la HDL en la función endotelial (16).

Sin embargo recientemente se ha publicado, que el proceso ateromatoso obstructivo tiene además de la placa ateromatosa fija una gran diversidad de factores que la convierten en un proceso “dinámico”, en el que participan una serie de trastornos involucrados con una inadecuada función vasodilatadora del segmento vascular ateroscleroso, que puede dar origen a “vasoconstricción paradójica” durante el esfuerzo físico o mental, que puede condicionar mayor isquemia, precisamente en el momento en que es más necesario el incremento del flujo sanguíneo (17).

Se ha investigado acerca de la posibilidad de que la disfunción endotelial sea reversible. Se considera que es un asunto de suma importancia, si se toma en cuenta que cualquier medida estratégica implementada para evitar un mayor daño del endotelio en

etapas tempranas, evitará el desarrollo de un mayor deterioro. Su detención aún en etapas mas avanzadas del padecimiento será una buena medida para disminuir la aparición de eventos clínicos coronarios. La reducción en el nivel de lípidos en los pacientes con hipercolesterolemia tanto en forma aguda como a largo plazo con el empleo de inhibidores de HMG CoA reductasa mejora la función endotelial (18).

Es importante entender que la disfunción endotelial condicionada por la enfermedad aterosclerosa coronaria, es uno de los factores primordiales a tomar en cuenta relacionado con el evento coronario en sí. Por esa razón es de vital importancia contar con algún método sencillo, no invasivo y a la vez reproducible que nos permita en la clínica cotidiana valorar el grado de disfunción endotelial, y así identificar a los pacientes de alto riesgo. Por otro lado hacen falta más estudios orientados a evaluar la utilidad real de la terapéutica tanto preventiva de la disfunción en etapas tempranas como de la enfermedad en fases avanzadas (19).

## **2 – CELULAS MUSCULARES LISAS**

Existe suficiente información, acerca del papel que juegan las células musculares lisas como formadoras de la capa media arterial; se les han identificado dos fenotipos, en base a los filamentos de miocina que las conforman y a la formación de retículo endoplásmico rugoso y al aparato de Golgi. Por lo tanto pueden corresponder a un fenotipo contráctil o bien a otro de tipo sintético; el fenotipo contráctil responde a sustancias vasoconstrictoras, como la endotelina, la angiotensina II, las catecolaminas, o bien puede relajarse como respuesta al estímulo de las prostaciclinas, oxido nítrico (ON), los neuropéptidos y los leucotrienos.



Cuando la célula muscular lisa es rica en retículo sarcoplásmico rugoso y en complejo de Golgi, su función será de síntesis y expresará genes para citocinas y moléculas de regulación del crecimiento. En condiciones normales el fenotipo predominante es el contráctil y solamente se expresa en el fenotipo sintético, siempre y cuando la célula muscular lisa migre hacia el espacio subendotelial, cuya función primordial es fibroproliferativa en la lesión aterosclerosa (20).

### **3 – MACROFAGOS**

Los macrófagos a nivel de la íntima de la pared vascular, se forman a partir de los monocitos circulantes. Los macrófagos son capaces de secretar varias sustancias, incluyendo algunos quimiotácticos como los leucotrienos B<sub>4</sub> y la Interleucina I y otros metabolitos del oxígeno como el anión superóxido, los cuales pueden ser tóxicos. Los macrófagos tienen capacidad para secretar al menos seis factores de crecimiento, tales como:

- El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP).
- La interleucina-1 (IL-1) inductora de FCDP en los fibroblastos.
- El factor de crecimiento del fibroblasto (FCF), mitógeno para el endotelio e importante agente angiogénico.
- El factor de crecimiento epidérmico (FCE), que estimula a las células epiteliales mediadas por un receptor específico.
- El factor de crecimiento beta (FCB) el cual, mediante un proceso sinérgico con los demás factores de crecimiento, favorecen la proliferación celular tisular.

- El factor estimulante de colonias monocito-macrófago (FECM-M).

El macrófago es la célula responsable de la producción de tejido conectivo, comúnmente asociado a una respuesta inflamatoria crónica, por su capacidad de “barredor” y por su cualidad para secretar factores de crecimiento. El macrófago y la célula del músculo liso son los precursores en la formación de las células espumosas (20).

Los macrófagos secretan proteasas y partículas tóxicas de oxígeno con lo que se producen lipoproteínas anormales. Los macrófagos secretan también citocinas que pueden estimular receptores de adhesión leucocitaria en el endotelio que aumentan la actividad celular endotelial procoagulante, los factores quimiotácticos de los monocitos y los factores estimulantes e inhibidores del crecimiento. La acumulación precoz de los macrófagos puede ser benéfica ya que, en un principio puede “limpiar” la íntima de los restos acumulados, aunque de persistir el proceso inflamatorio crónico su efecto será perjudicial.

La lesión conocida como “estría grasa” con el tiempo provoca la migración de células de músculo liso de la capa media hacia la íntima y facilita su proliferación. Este proceso es promovido por los macrófagos en el que también colaboran el endotelio y las células de músculo liso (21).

Las células de músculo liso acumulan en la íntima ésteres de colesterol y se convierten así en células espumosas. Las células de músculo liso que no acumulan lípidos, forman una base fibromuscular y modulan la formación de la placa aterosclerosa al producir tejido conectivo como la colágena, los proteoglicanos y la elastina, y también funcionan como fibroblastos en la lesión aterosclerosa.

El mecanismo por el cual las células de músculo liso se transforman en células espumosas no se conoce ya que no tienen receptores para lipoproteínas anormales, por lo que su inclusión lipídica parecería ser secundaria a un proceso fagocítico, probablemente

liberado de las células espumosas de macrófagos necróticos (22).

#### **4 – PLAQUETAS**

Cuando las plaquetas circulantes se ponen en contacto con los substratos que inducen su adhesión, agregación y degranulación, contribuyen a la vasoconstricción y a la trombosis. Las plaquetas secretan FCDP, el FCE y el factor de necrosis tumoral alfa.

La presencia de la actividad plaquetaria en la lesión aterosclerosa, se expresa por la observación de microtrombos plaquetarios murales (23). Las plaquetas se adhieren a la lesión endotelial y liberan tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), el cual es proagregante y vasoconstrictor; simultáneamente, las plaquetas liberan endoperóxidos que potencian la síntesis en la pared arterial de prostaciclina la cual tiene acción antiagregante y vasodilatadora. El desarrollo entre factores pro y antiagregantes plaquetarios es un factor importante en el desarrollo de la aterogénesis (23).

#### **5 – LINFOCITOS T**

Los linfocitos T, junto con los macrófagos y las células de músculo liso conforman los elementos que se localizan en la lesión aterosclerosa. Se pueden encontrar principalmente en la capa fibromuscular y conforman aproximadamente el 20% de la población celular total. Aún se desconoce su papel específico en esta patología, aunque se sabe que intervienen en un proceso inmunológico como parte de la patogenia de la aterosclerosis (20).

#### IV – NUEVOS FACTORES DE RIESGO ATEROGENICO

Clásicamente, se han descrito numerosos factores de riesgo convencionales que contribuyen al desarrollo de la aterosclerosis. La presencia de dichos factores de riesgo actúa como predictores de eventos cardiovasculares. Sin embargo, en algunos grupos poblacionales, los factores de riesgo convencionales no tienen un efecto causal o no explican completamente la aparición de enfermedad vascular, lo que ha sugerido la existencia de nuevos factores de riesgo que pudieran ejercer un papel determinante o contribuyente en la patogénesis de la enfermedad aterosclerótica. Entre éstos nuevos factores de riesgo, están:

##### ***A) Homocisteína(H)***

La hiperhomocisteinemia ya sea por fallas metabólicas, genéticas o nutricionales, parecen ejercer acciones deletéreas sobre el endotelio, promoviendo la inflamación y la formación de ateromas (24). La H está ligada en su metabolismo a los complejos vitamínicos B, particularmente la vitamina B12 y los folatos; de allí que las deficiencias o trastornos de estos complejos vitamínicos, incidan en el incremento de la H en la sangre. Dichas vitaminas son esenciales en la conversión de la Homocisteína a Cisteína, la cual no ejerce ningún efecto sobre la pared vascular (25,26).

Algunos estudios encontraron que la homocisteinemia hacía más vulnerables las células de la pared aórtica a la LDL oxidada. También se ha evidenciado que niveles elevados de H pueden modificar la LDL y la HDL por mecanismos oxidativos. Otros, sugieren que la H puede alterar la célula endotelial disminuyendo el factor de relajación derivado del endotelio (EDRF) y además disminuir la producción de ADN, promoviendo

también un crecimiento de las células musculares lisas (26). Así mismo, se ha identificado a la H como un procoagulante, capaz de activar el factor V y promover la activación de la protrombina, inhibición de la activación de la proteína C reactiva (PCR), no expresión de trombo-modulina, inhibición del plasminógeno, elevación del factor VII y de la trombina, aumento de la adhesión plaquetaria y de la formación de tromboxano A2. Estos hallazgos sugieren una explicación para los efectos protrombóticas de la H en el síndrome coronario agudo (26,27).

### ***B) Fibrinógeno***

El fibrinógeno es un importante factor de riesgo para la enfermedad vascular aterosclerótica. Según estudios, personas con niveles elevados de fibrinógeno tuvieron un riesgo relativo de futura enfermedad cardiovascular, 2.3 veces mayor que personas con bajos niveles. De estos estudios, solo uno, el estudio de Framingham incluyó mujeres (28). En hombres, el porcentaje de riesgo aumentó, inmediatamente después de un infarto de miocardio (IM). Los estudios de Gottingen sobre la incidencia y prevalencia de riesgos, aportaron variados análisis que indicaron la existencia de predictores para enfermedad arterial coronaria (EAC), tales como: LDL-C, historia familiar, Lp(a), HDL-C, fibrinógeno, edad, cigarrillo, diabetes e hipertensión (28).

El fibrinógeno tiene efectos proaterogénicos e incrementa la viscosidad del plasma, promueve la agregación plaquetaria y estimula la proliferación del músculo liso (28).

### ***C) Deterioro de la Fibrinólisis***

El sistema fibrinolítico depende del plasminógeno, el cual es convertido en su forma activa (plasmina), a través del activador tisular de plasminógeno (tPA). Los inhibidores

de este sistema: el inhibidor tipo 1 del activador de plasminógeno (PAI-1) e inhibidores de plasmina, son los responsables del deterioro de la fibrinólisis, el cual a su vez contribuye en el proceso de aterogénesis al favorecer el depósito de fibrina. Otros estudios, encontraron una mayor asociación del riesgo de aterosclerosis con el antígeno del tPA, más que con otros factores trombóticos, incluyendo al PAI-1 y al factor VIII en personas que presentan hiperlipemias y/o antecedentes de IM (28).

#### ***D) Reactividad Plaquetaria***

El tamaño de la plaqueta, función y número pueden estar relacionados con el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares ateroscleróticos. Además, el vínculo entre la función plaquetaria y la EAC se evidencia por la eficacia de la aspirina en la prevención primaria y secundaria. La medida por citometría de flujo de P-selectina, parece ser un indicador de incremento de agregación plaquetaria, siendo de valor predictivo en estudios prospectivos (28).

#### ***E) Hipercoagulabilidad***

El estado de hipercoagulabilidad afecta a diferentes capas vasculares. Aunque los defectos del sistema de coagulación, no se han asociado con un incremento de la incidencia de trombosis arterial o EAC; la presencia de la mutación del factor V Leiden (mutación del gen G20210A de la protrombina), se ha asociado con enfermedad arterial aterosclerótica pero solo en algunas mujeres que fuman. Evidentemente la hipercoagulabilidad es un estado que predispone a grandes trombos, agravado por la presencia de la ruptura de la placa. No obstante, la asociación entre EAC y estado de hipercoagulabilidad no ha sido bien definida (28).

#### ***F) Tolerancia Glucosada***

Recientemente se ha demostrado que, en algunos individuos, las alteraciones de los niveles de glucosa en ayuno, combinados con alteraciones de la tolerancia glucosada, promueven cambios ateroscleróticos en las arterias carotídeas, aunque no se han podido dilucidar el mecanismo de producción (30).

#### ***G) Estrógenos***

Se ha evidenciado que la TRH, aumenta la generación de fibrina. Algunos autores, atribuyen este aumento a la reducción de la actividad del inhibidor de la fibrinólisis del plasma. Otros, tratan de explicar este aumento de fibrina a través de la activación de los factores de coagulación, lo que a su vez se ha asociado con el aumento de eventos cardiovasculares (31).

Se han podido encontrar efectos de estrógenos exógenos en el desarrollo de procesos aterotrombóticos, lo cual se ha relacionado con la presencia de resistencia a la PCR, consecuencia de fenómenos mutagénicos del factor de Leiden. Los efectos trombóticos más importantes asociado a la terapia de reemplazo hormonal (TRH) se observan en dos grupos de mujeres, principalmente; a) aquellas que no presentan la mutación y no utilizan la TRH y b) aquellas que presentan la mutación y utilizan la TRH (31).

#### ***H) Hipotiroidismo***

Recientemente se ha demostrado, que pacientes clínicamente eutiroideos, con niveles de Hormona Estimuladora de Tiroides (TSH) dentro de límites de normales, bajos

niveles de tiroxina libre ( $14.25 \pm 3.06$  pmol/litro) e hiperlipidemia, presentan un incremento del riesgo para desarrollar enfermedad aterosclerótica. Sin embargo, no se han podido aclarar los mecanismos fisiopatológicos por los cuales dichos factores actúan (32).

### ***I) Óxido Nítrico***

A pesar de que el óxido nítrico (ON) ha sido considerado como un factor ateroprotector, algunos estudios han demostrado que la existencia de variantes en la enzima sintetasa del ON específicamente en la secuencia Glu298—Asp a nivel del gen 3 del cromosoma 7, constituye un nuevo factor de riesgo en la aterogénesis coronaria. No obstante, este hallazgo sólo pudo ser descrito en individuos homocigotos para el aspartato 298 y en menor proporción en los homocigotos para el glutamato. Adicionalmente, el riesgo en esta población especial, se incrementó por la existencia de antecedentes de IM y otros factores de riesgo clásicos. Por lo tanto, dicho hallazgo es potencialmente importante en la patogénesis de la aterosclerosis, pero requiere estudios mas amplios y en diferentes poblaciones para su final confirmación (33).

### ***J) Irradiación Mediastinal***

Se ha visto en la actualidad, que la radioterapia previa del tórax es un factor de riesgo para desarrollo temprano de aterosclerosis, produciendo lesiones en el ostium coronario y/o en la aorta descendente. El mecanismo por el cual se produce este efecto no se ha establecido claramente (34).



### ***K) Inflamación***

Se ha observado un mayor riesgo de enfermedad coronaria en aquellos pacientes que presentan elevaciones de las concentraciones de PCR. Estas elevaciones suelen estar asociadas a la presencia de concentraciones significativas de anticuerpos circulantes para agentes como Herpes virus tipo I y *Chlamydia pneumoniae* principalmente, observándose mayor probabilidad de eventos coronarios en aquellas personas con PCR>4.4 mg/l. Los niveles elevados de anticuerpos generados por cada uno de estos microorganismos, aumentan el riesgo de enfermedad coronaria de manera independiente, y al actuar sinérgicamente potencian la reacción inflamatoria, al producir un mayor aumento de los niveles de PCR (35).

### ***L) Infecciones***

Una cantidad creciente de estudios ha señalado a las infecciones como factor de riesgo en la enfermedad aterosclerótica. Entre los agentes infecciosos implicados se encuentran: *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, Herpes virus tipo I y el cytomegalovirus (36-37).

Los mecanismos patógenos por los cuales dichos microorganismos actúan en el desarrollo de la aterosclerosis, incluyen, la producción de mediadores pro inflamatorios, tales como: las citoquinas y radicales libres; la estimulación de la proliferación de las células del músculo liso vascular, de células mononucleares y de linfocitos T; además, de la disfunción endotelial causada por factores procoagulantes y proadhesivos. Es probable que estos mecanismos sean más complejos y multifactoriales y difieran, dependiendo de la infección y del paciente en sí (36,37).

Hay evidencias que sugieren que la enfermedad de Kawasaki, de probable origen infeccioso, es causa importante de arteritis coronaria y de IM en niños y adolescentes. Niños que sobreviven a esta enfermedad, a menudo, desarrollan aterosclerosis en la adultez temprana; lo que sugiere que las infecciones de la niñez y los síndromes de vasculitis son factores importantes en algunos pacientes para el desarrollo precoz de la aterosclerosis. Sin embargo, son las infecciones crónicas las que han sido mayormente relacionadas con la enfermedad aterosclerótica (36-37).

*Chlamydia pneumoniae*. Hay evidencias recientes que sugieren que esta tiene algún papel en el desarrollo de la aterosclerosis. Se ha propuesto, que puede actuar recíprocamente con los fagocitos mononucleares, contribuyendo así al desarrollo de lesiones ateroscleróticas. Adicionalmente, se ha demostrado que la presencia de la *C. pneumoniae* causa la formación de células espumosas a partir de macrófagos y la oxidación de lípidos en el sitio del desarrollo de la lesión, lo cual permite la deposición de moléculas de colesterol y LDL y, posteriormente, puede contribuir, localmente, de manera directa al daño tisular (38).

*Helicobacter pylori*. Las lesiones ateroscleróticas por *H.pylori* son muy comunes, aunque la causa de ese proceso es incierta. Algunos autores sostienen que este microorganismo actúa junto a otros agentes infecciosos tales como *C.pneumoniae* y/o Herpes virus, siendo éstos potenciales agentes causales de enfermedad aterosclerótica. Otros sugieren que el pico de eventos coronarios podría coincidir con el pico de úlcera duodenal, lo que hace pensar en el *H. pylori*, como factor responsable de este pico. Se ha establecido, además, que la asociación de esta infección con el proceso inflamatorio crónico en la mucosa gástrica eleva las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno, PCR y leucocitos; todos conocidos como factores para la aterosclerosis. Otras hipótesis incluyen la

deficiencia de vitamina B inducida por la gastritis, la cual llevaría a una hiperhomocisteinemia o a la estimulación de leucocitos de actividad procoagulante. Desafortunadamente, muchos de estos estudios son pequeños y no muestran una relación estadísticamente significativa. Sin embargo, esto último no descarta el papel de este agente como un posible factor de riesgo potencial para el desarrollo de aterosclerosis (39).

**Herpesvirus tipo I:** El Herpesvirus simples I (HSV-I) es capaz de inducir lesiones a nivel de la mucosa que se acompaña a menudo de una vasculitis localizada, con depósitos de fibrina. Además el HSV-I también puede alterar la superficie trombo-resistente normal formada por células superficiales del endotelio, a través de varios mecanismos:

- a) Inhibición de las propiedades anticoagulantes/antitrombóticas del endotelio vascular. Normalmente las células endoteliales sintetizan y expresan proteoglicanos de sulfato de heparina (HSPG) en su superficie. El HSPG es un elemento crucial para el reclutamiento y unión de la antitrombina III, que es el responsable de inactivar varias proteasas de la coagulación (trombina y factores IX, X, XI y XII). La infección de HSV-I, reduce la síntesis y expresión sobre la superficie de las células endoteliales de HSPG.
- b) Inducción de un fenotipo procoagulante/protrombótico. Después de la infección por HSV-I se produce cambios en la estructura fosfolipídica de las membranas celulares del endotelio que alteran la eficacia del complejo de protrombinasas, lo cual lleva a un incremento en la generación de trombina. Por otra parte, en el endotelio infectado por HSV-I, existe una disminución de la síntesis de PG-I2 reforzando de esta manera la adhesión plaquetaria.
- c) Infección por HSV-I, a nivel del endotelio, que produce una "up-regulation" en la expresión de moléculas de adhesión, lo cual conduce a la unión de células

inflamatorias sobre el endotelio vascular. A su vez la secreción de citoquinas protrombóticas por parte de estas células inflamatorias puede inducir a un cambio fenotípico de dichas células, convirtiéndolas en procoagulantes/protrombóticas (40).

Citomegalovirus. La implicancia vascular del cytomegalovirus es mucho más frecuente en sujetos con inmunodeficiencias (niños, anciano, trasplantados, etc.) y se manifiestan como una vasculitis que va desde la forma localizada hasta la generalizada. Se supone que la causa de este fenómeno, se encuentra en la condición inmune de estos sujetos, la cual hace a las células del endotelio vascular más “permisivas” a la infección por citomegalovirus. Adicionalmente, se ha comprobado que el citomegalovirus puede inducir actividad procoagulante y la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales, por un mecanismo muy parecido al producido en la infección por HVS-I. Otros estudios, han vinculado la presencia de niveles elevados de anticuerpos citomegalovirus y el desarrollo de la aterosclerosis (41).

## **V. LIPOPROTEÍNAS**

Son conjugados de proteínas con lípidos, especializadas en el transporte de estos últimos, pueden identificarse hasta 5 clases principales basándonos en el tamaño de las partículas, la composición química, las características fisicoquímicas y de flotación y su movilidad electroforética:

- Quilomicrones.
- Lipoproteínas de Muy Baja densidad (VLDL).
- Lipoproteínas de Baja densidad (LDL).
- Lipoproteínas de densidad Intermedia (IDL).

· **Lipoproteínas de Alta densidad (HDL).**

Las lipoproteínas están formadas por una fracción protéica denominada Apolipoproteínas (Apo) y una fracción lipídica.

**a) Quilomicrones:** Son partículas visibles al microscopio. Tienen un diámetro de 100-500nm y una densidad menor de 0.940, por lo que tienden a formar un sobrenadante en el plasma al dejarlo en reposo. Por su carga eléctrica, no migran del punto de aplicación en una electroforesis y están constituidos en un 80% por Triglicéridos, la mayor parte de origen dietario.

**b) Lipoproteínas de Muy Baja densidad (VLDL):** Son precursoras de las lipoproteínas de baja densidad. Tienen un diámetro de 30-100 nm, una densidad entre 0.94 y 1.019 y migran en la zona de las pre- $\beta$  globulinas en la electroforesis. Su componente lipídico fundamental son los Triglicéridos (52%), de origen endógeno, aunque contienen un 22% de colesterol libre y esterificado.

**c) Lipoproteínas de densidad Intermedia (IDL):** De forma y conformación muy similar a la LDL. Están caracterizadas por elevados niveles de Colesterol, principalmente en la forma de esteres colesterílicos.

**d) Lipoproteínas de Baja densidad (LDL):** Tienen un diámetro de 20-25 nm y una densidad entre 1.019 y 1.063. Su migración electroforética se realiza en la zona de las  $\beta$ -globulinas y están constituídas fundamentalmente por Colesterol en alrededor del 50%.

Estas cantidades de colesterol y esterios son habitualmente de unas dos tercias partes del colesterol plasmático total. Su importancia radica en el conocimiento de la homeostasis del colesterol que puede comprenderse revisando las consecuencias que tienen las concentraciones plasmáticas elevadas de colesterol cuando se mantiene de forma prolongada. El colesterol se acumula en los leucocitos que a su vez se depositan en las zonas de lesión sobre las paredes internas de las arterias, éstas se endurecen formando una placa, y finalmente obstruyen los vasos sanguíneos causando muchos trastornos circulatorios de mucho peligro para nuestra salud.

## **VI- RECEPTORES DE LIPOPROTEÍNAS**

Existen receptores hepáticos y periféricos. Los receptores hepáticos son ApoE afines: receptor de remanentes de quilomicrones (el B 48: E), el receptor compartido de los remanentes de VLDL (IDL) y LDL (el B100: E) y el receptor de HDL2 (el A1: E).

A nivel celular, existen receptores de LDL (B100 ) y de HDL (A1), de remanentes de quilomicrones y de VLDL y de LDL alteradas (acetiladas, oxidadas o glicosiladas) presentes en los macrófagos.

Recientemente, se ha descrito la existencia de un receptor adicional específico de remanentes de VLDL (IDL), de localización preferentemente periférica (diferente del receptor de LDL de localización preferente hepática) que también es ApoE afín y tiene la capacidad de captar remanentes de quilomicrones y VLDL.

## VII- SISTEMAS ENZIMATICOS

Los principales sistemas enzimáticos son:

**A) Sistema lipasa lipoprotéico periférico**, es sintetizado en las células, translocado a la superficie de la pared vascular y liberado por la heparina. Es activado por la ApoC2 e inhibido por la ApoC3 y es insulino-dependiente. Es responsable de la catabolización de quilomicrones y VLDL.

**B) Sistema lipasa lipoprotéico hepático**, está regulado por la síntesis de colesterol a nivel hepático, es responsable del catabolismo de los remanentes de quilomicrones y de VLDL y de las HDL2.

**C) Sistema lecitín colesterol acil transferasa (CLAT)**, es responsable de la esterificación de colesterol libre en las HDL, transfiere ácidos grasos desde los fosfolípidos al colesterol libre. Es estimulado por la Apo A1 y Apo C1.

Muy independientemente de los sistemas de transporte antes mencionados, se menciona también el Sistema de Transporte Intravascular de lípidos; al respecto se han identificado dos proteínas, la transportadora de colesterol éster (CEPT), responsable del transporte de colesterol éster y triglicéridos entre las lipoproteínas, y la transportadora de fosfolípidos (FEPT). Estas tienen una importante función para mantener las concentraciones séricas y de composición de las distintas fracciones lipoprotéicas.

## VIII- METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS (42)

### QUILOMICRONES.

Se forman en el intestino. El componente apolipoprotéico está formado por las Apo A1 y A2 y la Apo B48. Su componente lipídico son los triglicéridos y el colesterol de la

dieta y por el colesterol sintetizado por la pared intestinal que es excretado a su lumen. Se absorben por vía linfática y en circulación reciben Apo C y E desde las HDL. En la pared vascular de los tejidos especialmente adiposo y muscular son hidrolizados por la lipasa lipoprotéica periférica, liberando ácidos grasos y glicerol. Estos son captados a nivel tisular, originándose partículas denominadas remanentes de quilomicrones, con un contenido proporcional menor de triglicéridos. Estos transfieren Apo C y entregan Apo A1 a las HDL y son captados por los receptores hepáticos B48: E, en donde continúan su catabolismo por acción de la lipasa lipoprotéica hepática.

### **VLDL.**

Se forman en el Hígado. Su síntesis está regulada por la formación y catabolismo de la Apo B100 y por los ácidos grasos exportados desde el tejido adiposo y glicerol fosfato proveniente del metabolismo de la Glucosa que llevan a síntesis de Triglicéridos en el Hígado. Contienen Apo B100, C y E y en circulación reciben Apo C y E desde las HDL. Al igual que los quilomicrones son hidrolizadas en los tejidos extra hepáticos por el sistema de lipasa lipoprotéica periférica. Una proporción aproximadamente del 70%, son rápidamente captadas como remanentes de VLDL por los receptores hepáticos Apo B100 y posiblemente por los receptores de IDL: E y otra parte sigue hidrolizando sus triglicéridos y pierde Apo E, transformándose en LDL.

### **LDL.**

Son el producto del catabolismo de las VLDL. Contienen sólo Apo B100 y son ricas en colesterol libre y esterificado.



Son principalmente captadas a nivel hepático por los receptores B100: E en competencia con las IDL y por los receptores periféricos B100. Los receptores B100: E la internalizan y permiten su catabolismo celular, se libera colesterol libre y éste inhibe a la hidroximetilglutaril CoA reductasa (HMGCoAR), enzima clave para la síntesis de Colesterol, reduce la síntesis de receptores y estimula la acil colesterol acil transferasa (ACAT) que esterifica el colesterol. En esta forma se regula la concentración del colesterol a nivel celular. Una elevada proporción de las LDL son captadas por los receptores específicos hepáticos.

Aproximadamente entre el 20 a 30% de las LDL son captadas por receptores inespecíficos de los macrófagos, que no tienen capacidad de contra-regulación, proporcionalidad que sube al reducirse la capacidad de captar e internalizar las LDL por los receptores específicos.

## **HDL.**

Son fundamentales en el transporte reverso del colesterol desde los tejidos hacia el hígado, único órgano capaz de excretarlo (por la vía biliar). Sintetizadas a nivel intestinal (ricas en ApoA) y a nivel hepático (ricas en Apo E). Su forma naciente (HDLn), formada por fosfolípidos y apolipoproteínas, es captada por los receptores periféricos ApoA1, lo que induce traslocación del colesterol libre de la célula a la membrana y su transferencia a la partícula de HDL. El colesterol libre posicionado en la superficie de la molécula, es esterificado e internalizado por la acción de la lecitin colesterol acil transferasa (LCAT), dejando nuevos sitios para captar mas colesterol. Las partículas son heterogéneas, en parte dependiente de su estructura que está genéticamente condicionada y en parte de su modificación intravascular. Recientemente, se ha demostrado que partículas específicas de

HDL, con migración en la zona de las pre $\beta$  lipoproteínas (pre $\beta$  HDL) son las responsables de la captación del colesterol celular.

Además se han identificado partículas que contienen Apo A1 y Apos A1-A2 y otras Apo A4, que están condicionadas genéticamente y tienen una cinética metabólica distinta y posiblemente un rol cuali o cuantitativamente diferente en el transporte reverso de colesterol.

Aquellas que tienen CEPT transfieren el colesterol esterificado hacia las VLDL y LDL, manteniendo una capacidad aceptora de colesterol éster en la partícula.

Aquellas que no la tienen, continúan la esterificación del colesterol hasta un punto de saturación. La partícula se estabiliza y es captada por receptores hepáticos, suprarrenales, ováricos y testiculares. El mecanismo probable de saturación es una contra-regulación negativa entre la concentración de colesterol éster y el nivel de actividad de la enzima esterificadora, la CLAT. Desde el punto de vista fisicoquímico y en íntima relación con el contenido de moléculas esterificadas, se han descrito las HDL nacientes, las HDL3 que representan la estructura de las HDL que contienen CEPT y en parte en estado aún no saturado de las partículas que no la contienen, y las HDL2 que representan a las mismas HDL ya saturadas con colesterol éster.

Las HDL2 y las HDL3 son captadas a nivel hepático y metabolizadas por la lipasa lipoprotéica hepática. En parte son utilizadas para la regeneración de las HDL nacientes y en parte van a un catabolismo terminal al metabolizarse por receptores hepáticos ApoA1: E.

Cuando existe un incremento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la CEPT condiciona un flujo de triglicéridos de VLDL hacia HDL y se activa el flujo de colesterol éster desde las HDL hacia las VLDL y LDL. Se generan HDL pequeñas, ricas en triglicéridos, mas afines a la lipasa lipoprotéica hepática y que van preferentemente a

catabolismo terminal. Esto explica la frecuente asociación observada, en clínica, de triglicéridos altos y colesterol de HDL bajos. Este mismo fenómeno sucede con las LDL. Las LDL enriquecidas en triglicéridos son catabolizadas en el hígado por la lipasa lipoprotéica hepática y se hacen más densas y pequeñas, más oxidables y poco afines a los receptores fisiológicos de LDL y en consecuencia captados por los receptores de macrófagos resultando tener un mayor efecto aterogénico.

## **IX- APOLIPROTEINAS**

Las apolipoproteínas (Apo) son componentes estructurales de las lipoproteínas plasmáticas que juegan un papel importante en la regulación del metabolismo.

De las nueve apolipoproteínas que se conocen, todas difieren en su contenido de aminoácidos y su peso molecular; su concentración plasmática en individuos sanos se encuentra en el rango de 0.03-0.15 g/l.

Poseen una conformación molecular típica conocida como “alfa hélice anfipática” en la que su porción hidrofóbica integra un alto contenido de aminoácidos no polares y su porción hidrofílica integra los residuos polares de los aminoácidos que son abundantes. Cada estructura es esencial para la integridad de la lipoproteína, para que sea capaz de interaccionar con los lípidos de la porción hidrofóbica de la molécula de lipoproteína e interaccionar simultáneamente con el ambiente acuoso.

Basados en un criterio alfabético, las apolipoproteínas pueden agruparse en 4 familias, que incluyen miembros de diferente estructura, función y carácter metabólico.

## **1. Apolipoproteína A**

Las apolipoproteínas A son un grupo de proteínas distribuidas en forma variable sobre diferentes lipoproteínas; por ejemplo, la Apo A1 y la Apo A2 se encuentra principalmente en HDL, pero también en los quilomicrones. La Apo A4 se encuentra en forma libre en el plasma o unida a lipoproteínas.

La Apo A1 es la apolipoproteína más abundante en el plasma; está presente casi en forma total en HDL que constituye cerca del 90% y 60-70% de la fracción protéica en las subfracciones HDL2 y HDL3 respectivamente. Los niveles plasmáticos de Apo A1 son generalmente mayores en mujeres y correlacionan positivamente con la concentración de HDL-Colesterol. Esta correlación no es válida en sujetos con hipertrigliceridemia, en donde la fracción HDL está enriquecida con triglicéridos y casi ausente el Colesterol.

La Apo A1 es sintetizada inicialmente en el hígado e intestino como un precursor proteico el cual es degradado hasta su forma madura en plasma, que es una simple cadena polipeptídica que contiene 243 aminoácidos. Como el componente proteico de mayor concentración de HDL, participa activamente en el “transporte reverso de colesterol”, actúa como activador de la enzima lecitin colesterol acil transferasa (LCAT), y como liga para el complejo receptor-HDL, localizado en el hepatocito y sobre diversas células periféricas.

La Apo A2, es el segundo componente proteico de mayor concentración de HDL, aunque está ausente en la subfracción HDL2, este mismo constituye la tercera parte como componente proteico de HDL3. La Apo A2 se encuentra en menor concentración en plasma respecto de Apo A1 y los niveles plasmáticos no correlacionan con los niveles HDL-Colesterol. Desde un punto de vista estructural, la Apo A2 es diferente al resto de las proteínas transportadoras de lípidos, porque es la única apolipoproteína plasmática presente en forma de dímero. La Apo A2 está formada por dos cadenas polipeptídicas de 77

aminoácidos, unidos por un enlace disulfuro de los residuos de Cistina de la posición 6. La función específica de la Apo A2 no está claramente especificada, pero recientes estudios indican que interviene en la regulación de la actividad de la lipasa hepática. Sin embargo una absoluta ausencia de ApoA2 fue observada en una familia japonesa, no encontrándose asociación con algún trastorno metabólico o condición clínica significativa. Lo anterior confirma que la Apo A2 tiene una reducida participación en el metabolismo de lípidos.

La Apo A4 está constituida por una cadena polipeptídica compuesta de 376 aminoácidos fuertemente conformada, como una alfa hélice de naturaleza anfipática, condición que es necesaria para unir los quilomicrones en las células del intestino y participar en el transporte reverso o contra flujo de colesterol, favoreciendo la interacción entre el HDL y las células.

## **2. Apolipoproteína B**

Es una proteína con gran peso molecular, presente en los quilomicrones, lipoproteínas VLDL y LDL. Las concentraciones plasmáticas de Apo B se encuentran en el rango de 0.8 – 1.0 g/l en individuos normolipémicos. Su concentración es directamente correlacional con los valores de colesterol total y colesterol HDL.

Dos formas moleculares llamadas Apo B100 y Apo B48, existen en el plasma. La primera es una simple cadena polipeptídica de 4 536 aminoácidos; es una de las proteínas más grandes que existen en el plasma, sintetizada en el hígado y secretada dentro del VLDL. Esta es cuantitativamente mantenida durante la conversión de VLDL a IDL hasta LDL, de la cual es el único componente protéico. La Apo B100 es indispensable para el acoplamiento de las partículas de lipoproteínas (VLDL). Esta juega un papel importante

como molécula, ligando para LDL y su receptor. También participa en la regulación de los niveles de colesterol a nivel sanguíneo.

La Apo B48 está constituida por una cadena polipeptídica de 2 152 aminoácidos (éstos aminoácidos son similares a los de Apo B100, por lo tanto, Apo B48 es el 48% similar con respecto de Apo B100). Los niveles plasmáticos de Apo B48 en un sujeto normal en un periodo de ayuno, es de 50 veces menor respecto de la concentración de Apo B100. Esta concentración tiene un remarcado incremento durante el periodo postprandial.

La Apo B48 es sintetizada en el intestino y es una molécula esencial para la formación de Quilomicrones.

### **3. Apolipoproteína C**

Es una familia de proteínas de bajo peso molecular incluyendo la Apo C1, C2 y C3. Las tres apolipoproteínas difieren en su peso molecular, composición de aminoácidos y su función. Las apolipoproteínas C son sintetizadas en mayor proporción en el hígado y en menor proporción en el intestino; están presentes en lipoproteínas que integran en su mayor parte triglicéridos, tal es el caso de quilomicrones, VLDL, HDL. La Apo C en plasma tiene un importante papel, manteniendo el equilibrio dinámico entre HDL, quilomicrones y VLDL. La concentración plasmática en sujetos normales es muy bajo, 0.03 g/l para Apo C2 y 0.15 g/l para Apo C3. Sólo se puede observar un incremento en periodos postprandiales y en pacientes con hipertrigliceridemia.

La Apo C1 es la apolipoproteína más pequeña; está compuesta de 57 aminoácidos. En procesos in vitro es capaz de activar la enzima lecitin colesterol acil transferasa (LCAT).

Esta situación no indica que realice la misma función in vivo; sin embargo, la concentración y afinidad por la enzima es más elevada que la Apo A1.

La Apo C2 es un polipéptido de 79 aminoácidos, que está distribuido en forma variable de acuerdo a las diferentes clases de lipoproteínas. Esta juega un papel muy importante en la regulación del metabolismo de los triglicéridos; es en realidad un cofactor esencial para la actividad de la lipasa lipoprotéica hepática, enzima responsable de la hidrólisis de los triglicéridos presentes en las lipoproteínas, y es determinante en el catabolismo de los quilomicrones y VLDL.

La Apo C3, está formado por 79 aminoácidos y está presente en plasma en su forma glicosilada. En relación a un análisis isoelectrico, existen 3 isoformas identificables C30, C31 y C32, dependiendo de las moléculas de ácido siálico a las que esté unido (la cual le sirve para favorecer su unión con su receptor o a otras moléculas). Apo C2 y C3 participan en la regulación de la lipasa lipoprotéica hepática, generando un efecto de inhibición sobre ella.

#### **4. Apolipoproteína E**

La Apo E es un polipéptido de 299 aminoácidos, encontrándose en VLDL e IDL y una subfracción de HDL llamada HDL1. La concentración plasmática en sujetos normales es de 0.03 – 0.07 g/l y se llega a incrementar 2 a 3 veces por hiperlipoproteinemia y en un padecimiento conocido como enfermedad  $\beta$ -ancha, caracterizada por la presencia de una banda gruesa de lipoproteínas que emigra a la región pre- $\beta$  en una corrida electroforética. La Apo E se encuentra en los humanos en 3 isoformas reconocidas por análisis isoelectrico, llamadas E2, E3 y E4. Las tres isoformas difieren una de otra por la sustitución de un simple aminoácido (arginina por cistina) en dos posiciones específicas de la secuencia de

ApoE. La presencia de tres isoformas, cada una de ellas codificadas por un simple alelo, generan 6 diferentes fenotipos, tres homocigotos (E2/E2, E3/E3 y E4/E4), y tres heterocigotos (E2/E3, E2/E4 y E3/E4), distribuidos en forma variable en la población. El fenotipo E3/E3 es el más común (60% de la población) y el E2/E2 es el más raro y sirve como criterio absoluto de hiperlipoproteinemia tipo III.

La Apo E es reconocida por su receptor específico (presente en el hígado y responsable del catabolismo de los residuos de quilomicrones) y por el receptor LDL (que también une a Apo B100), la isoforma E2 aún no se le conoce algún tipo de receptor.



### **III - PARTE EXPERIMENTAL**

#### **I – MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO**

##### **1- Sujetos en estudio:**

Pobladores aparentemente sanos, de Cerro de Pasco (4340-4375 msnm) y pobladores de Lima Metropolitana (125-130 msnm).

##### **2- Criterios de selección:**

En este estudio participaron personas de ambos sexos entre 22 y 48 años de edad, todas aparentemente sanas, 48 de grupo control de nivel del mar y 51 personas nativas de altura (Cerro de Pasco).

##### **3- Criterios de exclusión:**

Pacientes con signos clínicos de cardiopatías, disfunción renal y hepática, alcoholismo crónico, tabaquismo y sujetos que tengan menos de un año de permanencia en las localidades de estudio.

#### **II – MÉTODOS Y TÉCNICAS:**

Los exámenes de Laboratorio consistieron en la determinación de colesterol total, triglicéridos, HDL-colesterol, LDL-colesterol y Apo-B.

Los pacientes permanecieron en ayunas por aproximadamente 12 horas, después de lo cual se obtuvo la muestra de sangre de la vena media basilica, extrayendo aproximadamente 10 ml., que se recibieron en tubos limpios y secos; en menos de 30 minutos se procedió a la separación del suero, mediante centrifugación a 5 000 RPM y

se almacenó a -20 °C en una congeladora, hasta la determinación de los valores del perfil lipídico en un plazo no mayor a 30 días, en los Laboratorios Medlab y Roche Diagnóstica en Lima.

### **III – MATERIALES Y EQUIPOS:**

#### **Equipo de Laboratorio:**

Centrífuga.

Congeladora (Centro de Diagnóstica – Laboratorios Roche).

Equipo Auto analizador Hitachi 902.

#### **Materiales de Laboratorio:**

Micro pipetas de 10 – 200 micro litros

Micro cubetas

Agua bidestilada

#### **A- Reactivos :**

- **Para la determinación de Colesterol Total :**

Reactivo de Colesterol: Test Enzimático

Tampón piperazina 1,4 bis (2- ácido etansulfónico) pH 6,8; Mg +2; colato sódico;

4- amino fenazona; fenol; éter poliglicólico de alcohol graso; colesterol esterasa

(*Pseudomonas sp.*); colesterol oxidasa (*E. coli*); peroxidasa (rábano picante);

estabilizadores y conservantes.

- **Para la determinación de Triglicéridos :**

Tampón / 4- clorofenol / enzimas 18x50 ml

Tampón piperazina 1,4 bis (2- ácido etansulfónico) pH 6,8; Mg<sup>+2</sup>; colato sódico;

ATP 1,4 mmol/l; 4- aminofenazona; 4-clorofenol; hexaciano ferrato de potasio,

éter poliglicólico de alcohol graso; lipasa lipoprotéica; glicerocinasa; glicerol

fosfato-oxidasa, peroxidasa y conservantes.

- **Para la determinación de HDL-Colesterol:**

Reactivos R1 y R2:

R1:  $\alpha$  -ciclodextrina / tampón.

Tampón ácido 3 morfolina propansulfónico pH 7; sulfato de  $\alpha$ -  
ciclodextrina; sulfato de dextrano; sulfato de Magnesio; N-(2-hidroxi 3-  
sulfopropil) 3,5dimetoxianilina; ascorbato oxidasa; peroxidasa y conservantes.

R2: PEG enzimas/ 4-aminofenazona /tampón.

Tampón piperazina 1,4 bis (ácido 2-etansulfónico) pH 7; PEG colesterol  
esterasa; PEG colesterol oxidasa; peroxidasa; 4-aminofenazona y conservantes.

- **Para la determinación de LDL-Colesterol:**

Reactivos R1 y R2:

R1:  $\alpha$  -ciclodextrina / tampón.

Tampón ácido de 3-morfolinopropano sulfónico pH 7; sulfato de  $\alpha$ -  
ciclodextrina; sulfato de dextrano; SO<sub>4</sub>Mg.7H<sub>2</sub>O; N-(2-hidroxi 3 sulfopropilo)-3,5  
dimetoxianilina sódica; ascorbato oxidasa; peroxidasa y conservantes.

R2: Tampón /enzimas /4-amino antipirina.

Tampón ácido de 3-morfolinopropano sulfónico pH 7; 4-amino antipirina; colesterol esterasa; colesterol oxidasa; peroxidasa, detergente y conservantes.

- **Para la determinación de Apo-B:**

Reactivos R1, R2 y R3:

R1: Tampón:

Tampón tris (hidroximetil)-amino metano pH 8, PEG; detergente y conservantes.

R2: Anticuerpos anti-apolipoproteína B:

Anticuerpos policlonales anti-apolipoproteína B humana (oveja) dependiendo del título; tampón tris (hidroximetil)-amino metano pH 8 y conservantes.

R3: Calibradores:

Apolipoproteína B en suero humano

## **IV – METODOS**

### **A) Determinación de Colesterol Total**

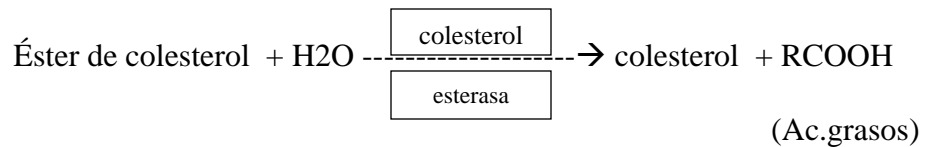
#### **Fundamento:**

Se basa en la determinación de  $\alpha$ -colesteno después del desdoblamiento enzimático de los ésteres de colesterol con colesterol esterasa y la transformación

del colesterol por colesterol oxidasa, así como la medición subsiguiente del peróxido de hidrógeno formado a través de la reacción de Trinder.

Muestra, adición de R1 (reactivo de colesterol) e inicio de la reacción, con colesterol esterasa y colesterol oxidasa, el colesterol se determina enzimáticamente.

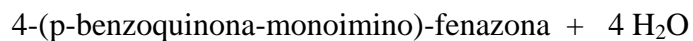
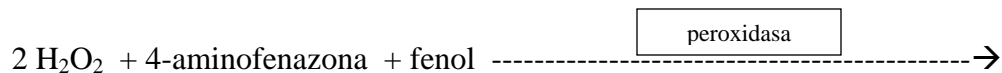
Bajo la influencia de la enzima colesterol esterasa, los ésteres de colesterol se desdoblan en colesterol libre y ácidos grasos:



El colesterol se transforma a  $\alpha$ -colesteno y peróxido de hidrógeno mediante oxígeno y colesterol oxidasa.



Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado, reacciona con 4-amino fenazona y fenol para formar un colorante **rojo** cuya intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de colesterol. Este colorante puede medirse fotométricamente.



ROJO

#### Observaciones :

- No emplear plasma con citrato, oxalato o fluoruro.
- Sin interferencia significativa en ictericia, hemólisis y lipemia.
- Intervalo de medición: 3 – 800 mg/dl.
- Valores de referencia:

Intervalo ideal < 200 mg/dl

Intervalo límite 200 – 239 mg/dl

Colesterol alto > 240 mg/dl

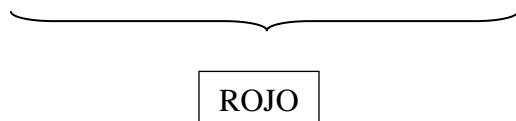
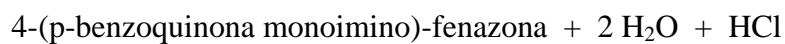
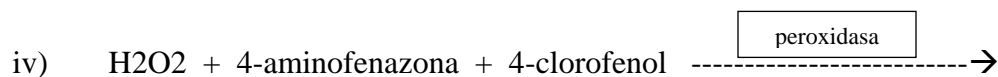
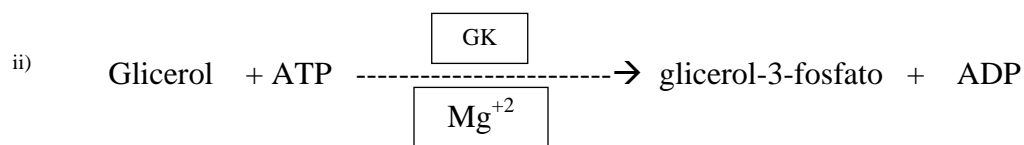
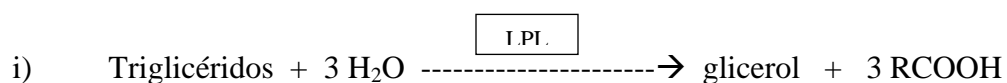
### **B) Determinación de Triglicéridos**

#### **Fundamento**

Este método se basa en el trabajo de Wahlefeld empleando una lipasa lipoprotéica de microorganismos para la hidrólisis completa y rápida de triglicéridos a glicerol con oxidación subsiguiente a dihidroxiacetona fosfato y

peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado, bajo la acción catalítica de la peroxidasa con 4-amino fenazona y 4-clorofenol un colorante **rojo** en una reacción de punto final según Trinder.

Muestra y adición de R1 (tampón/4-clorofenol/enzima) e inicio de la reacción:



Observaciones:

- Sin interferencias significativas en ictericia, hemólisis y lipemia.
- Intervalo de medición: 4 – 1000 mg/dl.
- Valores de referencia:

**Colesterol** < 200 mg/dl sin trastornos lipídicos

**Triglicéridos**

**Colesterol** 200 – 300 mg/dl con trastornos lipídicos  
HDL-C < 35 mg/dl

**Colesterol** > 300 mg/dl trastorno lipídico

**Triglicéridos** > 200 mg/dl trastorno lipídico

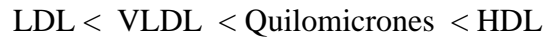
**Intervalo normal:** < 200 mg/dl

**C) Determinación de HDL-Colesterol**

**Fundamento**

Este método automatizable emplea enzimas modificadas por PEG (Poli etilenglicol) y Sulfato de  $\alpha$ -ciclodextrina y de Dextrano. La colesterol-esterasa y colesterol-oxidasa modificados por PEG presentan actividades catalíticas selectivas frente a las fracciones de lipoproteínas aumentándose la reactividad en el orden siguiente:





En presencia de iones de Magnesio, el sulfato de dextrina disminuye la reactividad del colesterol, especialmente en quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por lo que no se requiere ninguna precipitación.

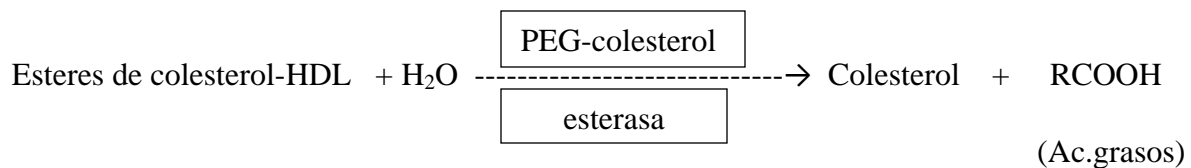
i) Muestra y reacción de R1

En solución tampón ligeramente alcalino, el sulfato de dextrano y el sulfato de  $\alpha$ - ciclodextrina forman, en presencia de sulfato de magnesio, complejos solubles en agua, selectivamente con LDL, VLDL y quilomicrones resistentes contra las enzimas modificadas por PEG.

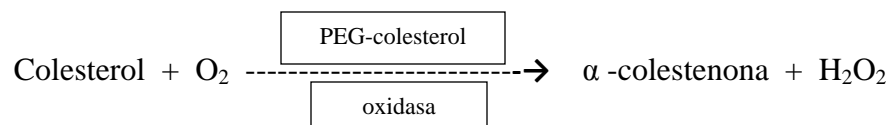
ii) Adición de R2

La concentración del colesterol HDL se determina enzimáticamente acoplándose aproximadamente el 40% de los grupos amínicos de la colesterol esterasa y colesterol oxidasa con PEG.

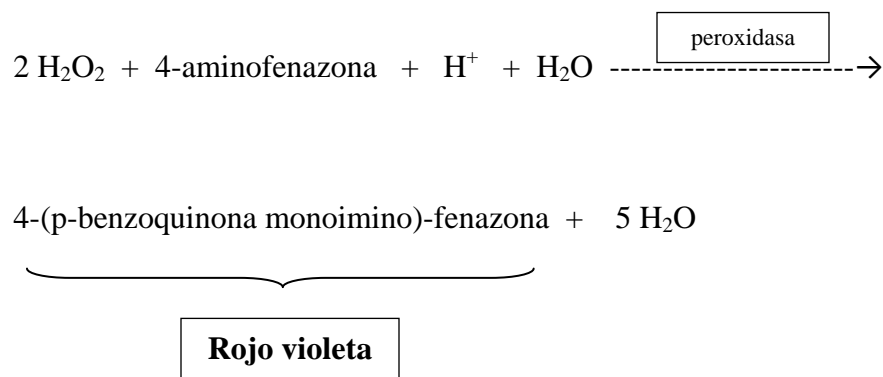
Bajo la influencia del colesterol-esterasa, los ésteres de colesterol se desdoblan a colesterol libre y ácidos grasos.



El colesterol se transforma a  $\alpha$ -colesteno y peróxido de hidrógeno mediante oxígeno y colesterol oxidasa



Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminofenazona para formar un colorante **rojo-violeta** cuya intensidad de color que es directamente proporcional a la concentración de colesterol HDL que se mide fotométrica y turbidimétricamente.



Observaciones:

- Plasma con heparinato de litio y heparinato sódico (como preservantes).
- Plasma con EDTA lleva a recuperaciones disminuidas.
- Para la determinación pueden emplearse muestras extraídas en ayunas o después de ingesta alimentaria.

-Sin interferencia significativa en ictericia, hemólisis y lipemia.

-Intervalo de medición: 3 – 120 mg/dl.

-Valores de referencia:

HDL-C Bajo:	< 35 mg/dl	Factor Riesgo (+)
-------------	------------	-------------------

HDL-C Alto:	> 60 mg/dl	Factor Riesgo (-)
-------------	------------	-------------------

-El valor del HDL-C se ve afectado por una serie de factores como el hábito de fumar, ejercicios físicos, hormonas, sexo y edad.

## **D) Determinación de LDL-Colesterol**

### **Fundamento**

Este método emplea la solubilización micelar selectiva del colesterol-LDL por un detergente no iónico y la interacción de un compuesto de azúcar y lipoproteínas (VLDL y quilomicrones). Si se incluye un detergente en el método enzimático para la determinación del colesterol (reacción de acoplamiento de colesterol esterasa y colesterol oxidasa), las actividades relativas del colesterol en las fracciones de lipoproteínas aumentan en el siguiente orden:

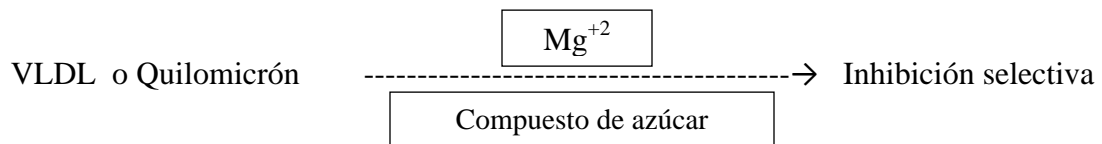
$$\text{HDL} < \text{quilomicrones} < \text{VLDL} < \text{LDL}$$

En presencia de  $\text{Mg}^{+2}$ , un compuesto de azúcar reduce pronunciadamente la reacción enzimática de la medición de colesterol en VLDL y quilomicrones.

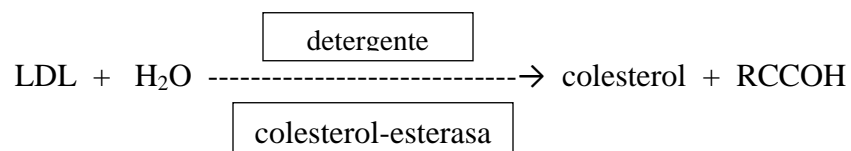
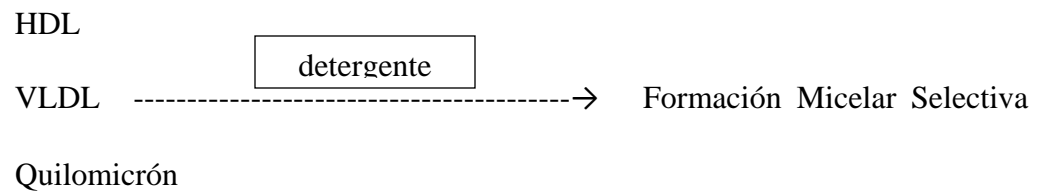
La combinación de un compuesto de azúcar y un detergente permite la determinación selectiva del colesterol LDL en el suero.

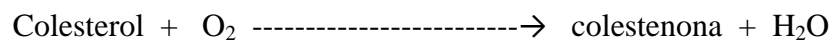
Este test directo cumple con los requisitos del NECP (Network Element Control Protocol -1999), desviación  $\leq$  al 4% frente al método de referencia y un error analítico total  $\leq$  al 12 %.

i) Muestra y adición de R1:

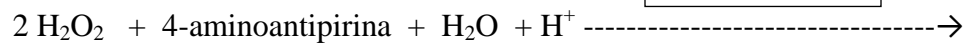


ii) Adición de R2 e inicio de la reacción :

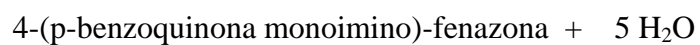




oxidasa



peroxidasa



**Rojo-violeta**

(Ext. Máxima 585 nm)

Observaciones:

- Pueden emplearse muestras extraídas en ayunas o después de ingesta alimentaria.
- Plasma con EDTA lleva a resultados **disminuidos.**
- Intervalo de medición: 3 - 550 mg/dl.
- Valores de referencia:

Recomendado : < 130 mg/dl.

Riesgo moderado : 130-159 mg/dl.

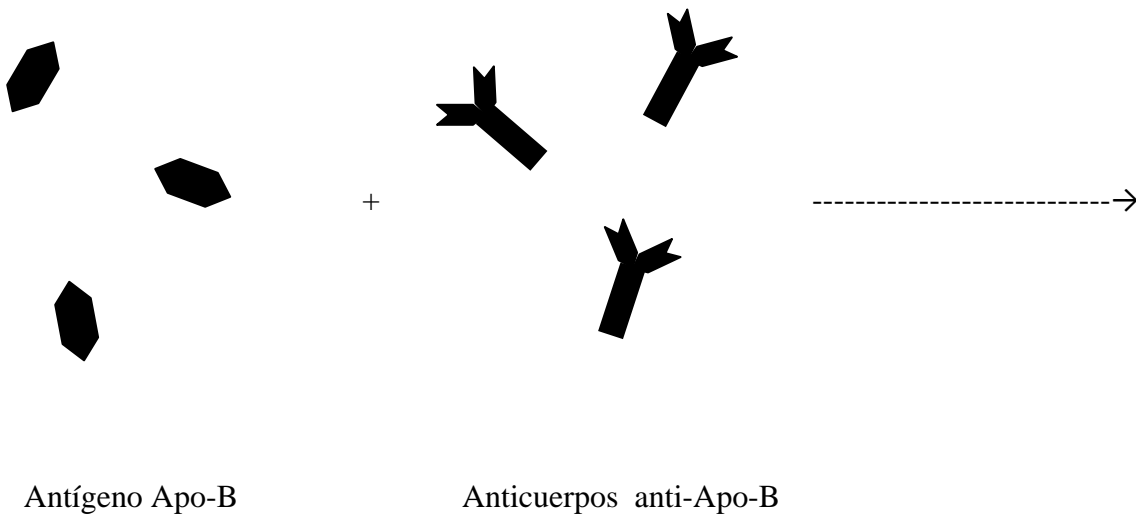
Riesgo alto : > 160 mg/dl.

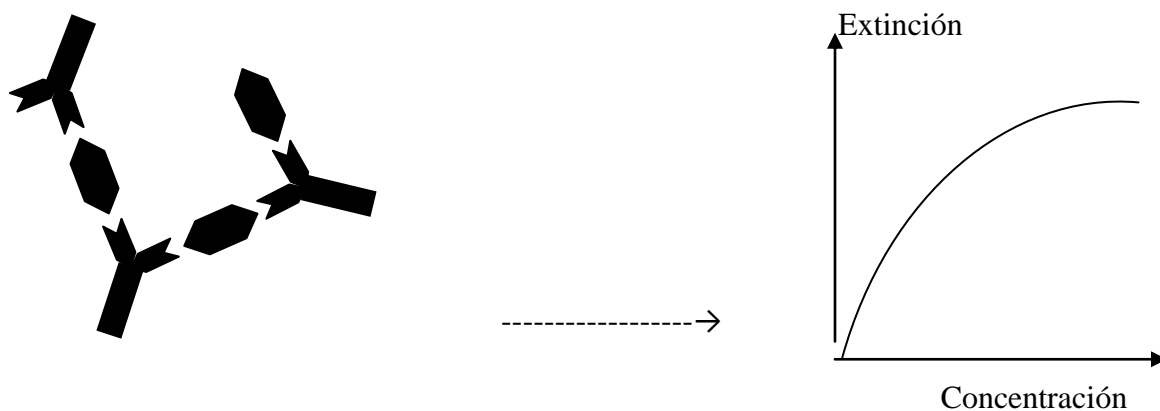
## E) Determinación de Apo-B

### Fundamento

La Apo-B se determina mediante Inmunoensayos (RIA, ELISA), electroinmunodifusión radial, nefelometría o turbidimetría.

- i) Muestra y adición de R1 (tampón).
- ii) Adición de R2 (anticuerpos anti-apolipoproteína B ) e inicio de la reacción:





Complejo Antígeno-Anticuerpo

### ***MEDICION TURBIDIMETRICA (43)***

Los anticuerpos anti-apolipoproteína B reaccionan con el antígeno de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide turbidimétricamente después de la aglutinación.

#### Observaciones:

- Los calibradores han sido preparados únicamente de sangre de donantes que no presentan anticuerpos anti HIV-1, anti HIV-2, anti HCV ni HbsAg. Pero dado que no puede excluirse con seguridad el riesgo de infección, este producto puede tratarse con el mismo cuidado que una muestra de paciente.
- Intervalos de medición: 25 – 200 mg/dl.
- Valores de referencia:  
Varones : 66 – 133 mg/dl.  
Mujeres : 60 – 117 mg/dl.

- A medida que el operador se familiarice con el procedimiento experimental, se puede realizar el análisis varias veces sin calibración, siempre que se utilice los mismos lotes de muestreo y condiciones de análisis.



#### IV - RESULTADOS

En la Anexo N°1 se presentan los resultados del perfil lipídico para los habitantes de Lima. Se puede apreciar que el rango de las medidas de **colesterol** van desde 109 mg/dL hasta 304 mg/dL, mientras en el Anexo N°2, que son los resultados para los habitantes de Cerro de Pasco, el rango fue de 83 mg/dL hasta 274 mg/dL., encontrándose una primera diferencia significativa.

Asimismo, se puede apreciar que el rango de las medidas de **Apo-B** para Lima fue de 44 mg/dL hasta 190 mg/dL, mientras que para la población de Cerro de Pasco fue de 57 mg/dL hasta 181 mg/dL no siendo una diferencia muy marcada como se esperaba.

Para tomar en cuenta el grado de protección contra el LDL, representado por los niveles de **HDL**, tenemos que el rango fue de 21 mg/dL hasta 63 mg/dL para la población de Lima, mientras que para la población de Cerro de Pasco fue de 20 mg/ dl hasta 60 mg/dl., observándose una marcada similitud.

**TABLA N° 1**

**PRUEBA T STUDENT PARA COMPARAR MEDIAS DE LOS PERFILES  
LIPIDICOS DE LA POBLACION DE LIMA Y CERRO DE PASCO**

	Altitud	Muestra	Media	Desviación Estándar	T	P
Colesterol	Nivel de mar	46	185.35	37.78	2.675	0.009*
	Cerro de Pasco	51	163.63	41.78		
HDL	Nivel de mar	46	37.93	9.81	1.502	ns
	Cerro de Pasco	51	35.24	7.87		
LDL	Nivel de mar	46	118.48	33.43	2.697	0.008*
	Cerro de Pasco	51	100.02	33.87		
VLDL	Nivel de mar	46	28.93	15.55	0.179	ns
	Cerro de Pasco	51	28.37	15.27		
TG	Nivel de mar	46	144.91	78.05	0.187	ns
	Cerro de Pasco	51	141.98	76.57		
Apo-B	Nivel de mar	46	106.3	33.12	-0.520	ns
	Cerro de Pasco	51	109.39	25.18		

\*p<0.05 se encontró significancia estadística

ns: no significativo

Se aprecia que el colesterol obtuvo una mayor media (185.35 mg/dL) en personas que provenían del Lima, en relación a la media del colesterol (163.63 mg/dL) de personas que provenían de Cerro de Pasco.

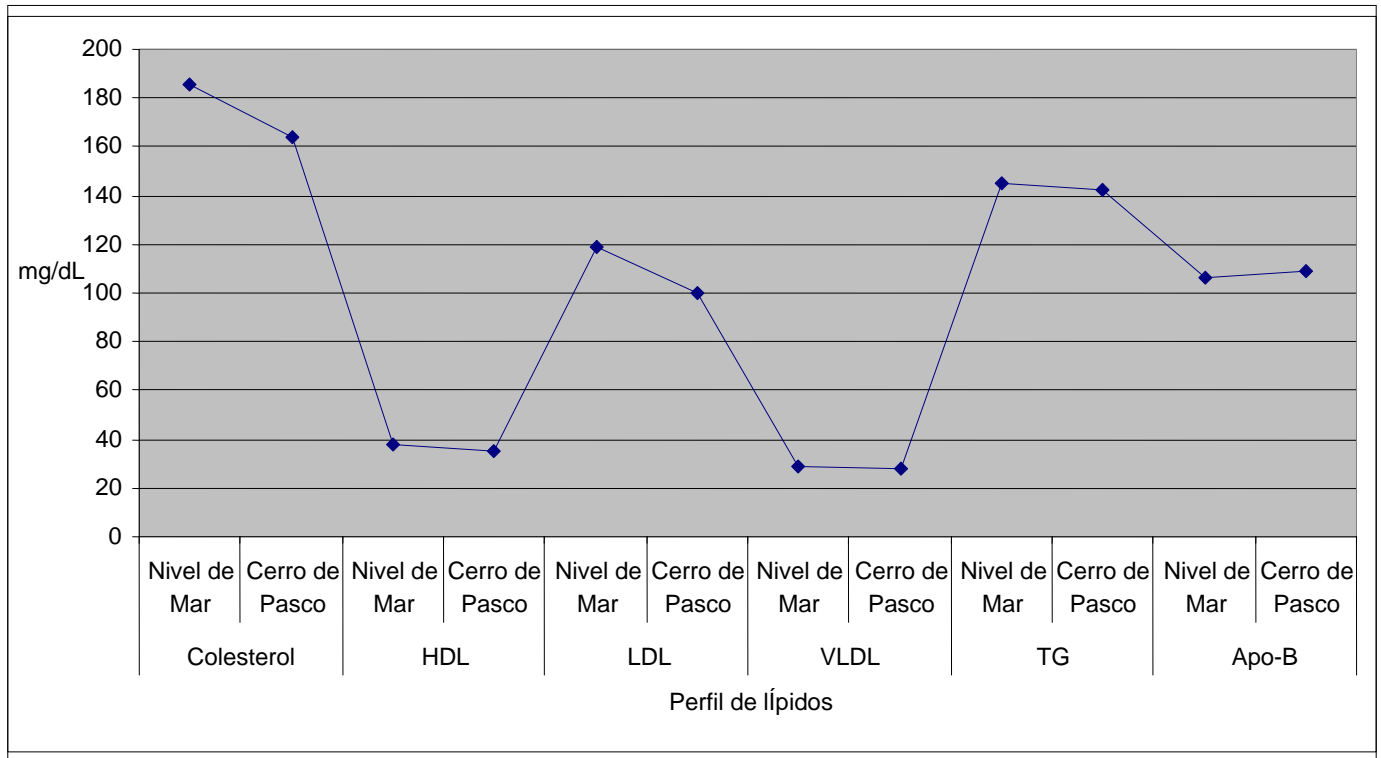
Asimismo se encontró diferencia significativa ( $P=0.009<0.05$ ) entre las medias del Colesterol analizado entre ambas poblaciones. También se encontró que la media (11.8348 mg/dL) de LDL en la población de personas que provenían de Lima fue mayor que la media del LDL en personas que provenían de Cerro de Pasco, con diferencia significativa ( $p=0.008<0.005$ ).

Así también, se puede observar la escasa diferencia entre las medias de HDL-colesterol en ambas poblaciones, lo que nos indicaría que estas poblaciones tienen similares niveles de protección contra la aterosclerosis a pesar de ser niveles relativamente bajos (HDL-colesterol  $\geq 35$  mg/dL).

Y por último se aprecia ligera diferencia entre los niveles de Apo-B de ambas poblaciones, lo que nos indicaría un cambio en los hábitos dietarios de la población de Cerro de Pasco, que estarían asemejándose al de los habitantes de la costa, sobre todo en cuanto a la ingesta de lípidos y carbohidratos, pero esto sería objeto de posterior análisis.

### GRAFICO N° 1

#### COMPARACION DE MEDIAS DE LOS PERFILES LIPIDICOS SEGÚN LA ALTITUD DE LAS POBLACIONES



En el gráfico se aprecia claramente la similitud de los valores de las medias de HDL y Apo-B.

Asimismo, la diferencia entre las medias de Colesterol entre las dos poblaciones estudiadas.

**TABLA N° 2**

**CORRELACIÓN DE PEARSON PARA LOS PERFILES LIPIDICOS DE LA POBLACION DE LIMA**

	Coeficiente	Colesterol	HDL	LDL	VLDL	TG	Apo-B
Colesterol	R	1	0.0356	0.9261	0.4161	0.4188	0.8635
	P		0.814*	0.000*	0.004*	0.004*	0.000*
HDL	R		1	-0.051	-0.434	-0.432	-0.006
	P			NS	0.003*	0.003*	NS
LDL	R			1	0.132	0.134	0.893
	P				NS	NS	0.000*
VLDL	R				1	0.999	0.185
	P					0.00*	NS
TG	R					1	0.1855
	P						NS
Apo-B	R						1

\* $p < 0.05$  se encontró significancia estadística.

R: Coeficiente de Pearson's.

Se encontró alta correlación positiva (0.9261) entre las medidas de colesterol y las medidas de LDL, con significancia estadística ( $p < 0.05$ ).

Asimismo se observa alta correlación positiva (0.8625) entre las medidas del colesterol y el Apo-B ( $p < 0.05$ )

**TABLA N° 3**

**CORRELACIÓN DE PEARSON PARA LOS PERFILES LIPIDICOS DE LA POBLACION DE CERRO DE PASCO**

	Coeficiente	Colesterol	HDL	LDL	VLDL	TG	Apo-B
Colesterol	R	1	0.2142	0.9444	0.5312	0.2142	0.9444
	P		0.131	0.000*	0.000*	0.00*	0.000*
HDL	R		1	0.1729	-0.312	-0.312	0.022
	P			NS	0.026	0.026	NS
LDL	R			1	0.2770	0.278	0.9196
	P				0.049	0.048	0.000*
VLDL	R				1	0.9998	0.5975
	P					0.00*	0.00*
TG	R					1	0.5984
	P						0.000*
Apo-B	R						1

\* $p < 0.05$  se encontró significancia estadística

R: Coeficiente de Pearson's

Se encontró una alta correlación positiva (0.9444) entre las medidas de colesterol y el LDL, encontrándose significancia estadística ( $p < 0.05$ ), asimismo se observa una alta correlación positiva (0.9444) entre las medidas del colesterol y el Apo-B, hallándose significancia estadística ( $p < 0.05$ )

**TABLA N° 4**

**ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL ENTRE EL Apo-B Y EL PERFIL LIPIDICO  
PARA LAS DOS POBLACIONES**

Independientes	Altitud	B	Error estándar	Coeficiente de determinación	T	P
Colesterol	Nivel de mar	-34.0	12.602	0.74	-2.698	0.1
		0.75	0.37		11.35	0.000*
	Cerro de Pasco	13.947	3.64	0.94	3.82	0.000*
		0.583	0.022		26.9	0.000*
LDL	Nivel de mar	1.461	8.260	0.79	0.177	0.860
		0.885	0.067		13.179	0.000*
	Cerro de Pasco	41.01	4.4402	0.84	9.317	0.000*
		0.684	0.042		16.385	0.000*
VLDL	Nivel de mar	95.124	10.345	0.03	9.125	0.00*
		0.386	0.316		1.224	0.227
	Cerro de Pasco	81.444	6.072	0.35	3.413	0.00*
		0.985	0.189		5.216	0.000*
TG	Nivel de mar	94.898	10.321	0.03	9.195	0.00*
		0.078	0.063		1.252	0.217
	Cerro de Pasco	81.452	6.058	0.35	13.444	0.000*
		0.197	0.038		5.228	0.000*

\*  $p < 0.05$  significancia estadística

Variable dependiente: Apo B.

Se realizaron cuatro modelos de regresión lineal simple donde se consideró la variable dependiente Apo-B y las variables independientes Colesterol, LDL, VLDL y Triglicéridos.

Por cada unidad de variación del colesterol, el Apo-B aumenta en 0.75 mg/dL en personas que provienen de Lima.

Sin embargo, por cada unidad de variación del colesterol en personas que provienen de Cerro de Pasco tienen un menor aumento en el Apo-B.

Asimismo, se aprecia que el 74% de la variación total del Apo-B es explicada por la variación total del colesterol en la población de Lima; así como, el 94 % de la variación total del Apo-B es explicada por la variación total del colesterol.

También se encontró relación significativa ( $p<0.05$ ) entre el colesterol y el Apo-B en las dos poblaciones.

En relación al LDL en las zonas de baja altitud el modelo dice que por cada unidad de variación del colesterol, el Apo-B aumenta en 0.885 mg/dl.

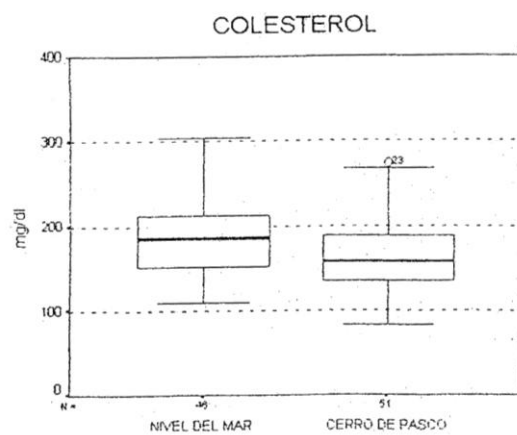
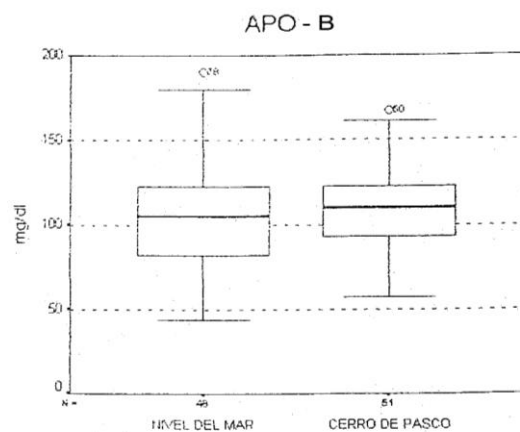
Asimismo, lo que refleja el modelo de la muestra de Cerro de Pasco es que por cada unidad de variación del colesterol, el Apo-B aumenta en 0.684 mg/dl

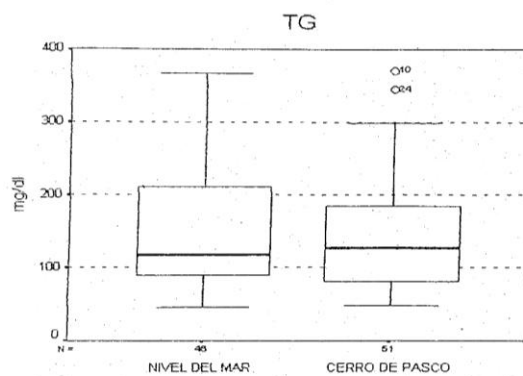
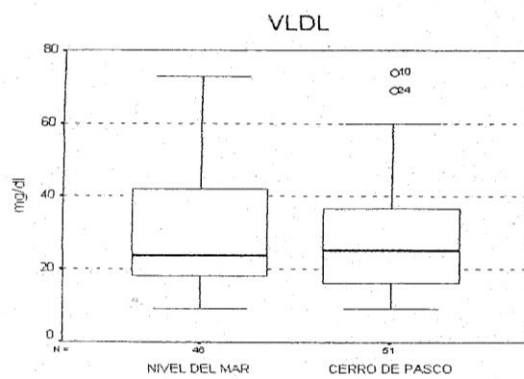
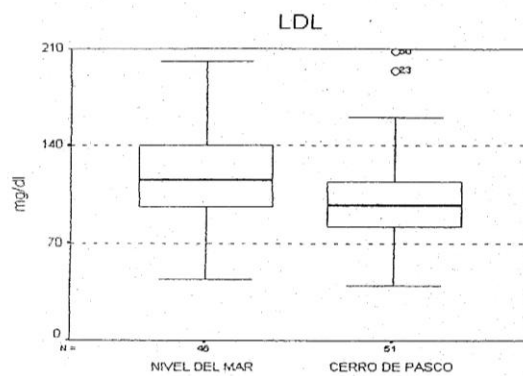
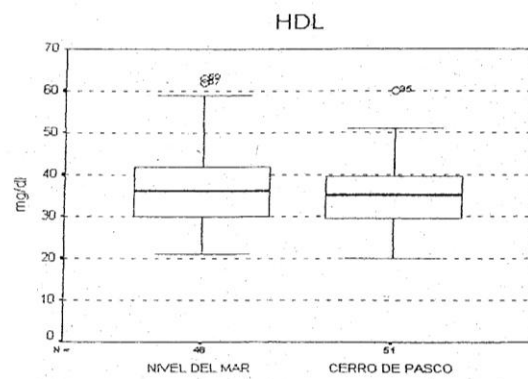
Asimismo se refleja mayor explicación de la variación total (84%) en la población de Cerro de Pasco (84%), en relación a la explicación de la variación total en Lima (79%).

También se encontró relación estadística significativa ( $p<0.05$ ) entre el colesterol y el Apo-B para las dos poblaciones de estudio.



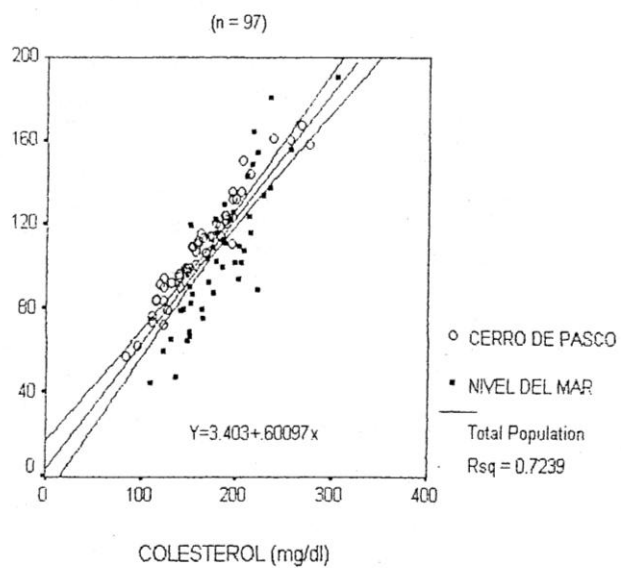
GRAFICO N° 02: MEDIAS E INTERVALOS DE REFERENCIA DE LAS DOS POBLACIONES



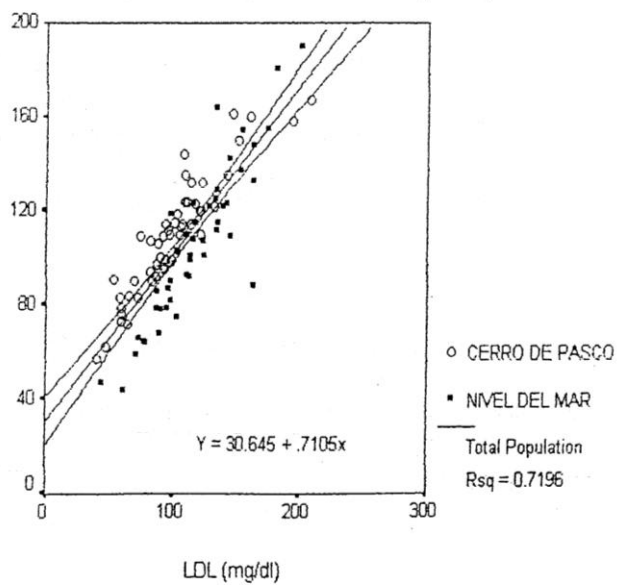


### GRAFICO N° 03: RELACION ENTRE Apo-B Y COLESTEROL

#### RELACION ENTRE APO - B Y COLESTEROL



#### RELACION ENTRE APO - B Y LDL (n=97)



## V - DISCUSIÓN

El vivir en las grandes alturas conlleva a que las respuestas metabólicas sean diferentes que las del nivel del mar. La población peruana vive y se desarrolla a diferentes alturas sobre el nivel del mar y aproximadamente un tercio vive por encima de los 2000 m.s.n.m.

Muchos estudios refieren que en la altura la glicemia está disminuida. Esto es debido a una mayor utilización de este azúcar y a su vez esta hipoglicemia estimula la liberación de la hormona del crecimiento y glucagón. La curva de tolerancia a la glucosa es normal, aunque con valores menores.

Los estudios de Sobrevilla (44) demuestran que los pobladores de las grandes alturas tienen valores más bajos de colesterol total (CT) y del LDL que los pobladores de nivel del mar y en cambio los valores de HDL son más altos, lo cual no coincide con nuestros resultados. Además, comprobó que el diabético de altura está en menor riesgo de presentar una enfermedad cerebro vascular (ECV) que el diabético de nivel del mar, en razón de las menores alteraciones lipídicas.

Asimismo, se ha observado en ancianos, que los niveles de colesterol total son más elevados a nivel del mar que en la altura. La frecuencia de hipercolesterolemia es de 21.2 % en ancianos de Lima y 5.2 % en altura (Cusco); además en la altura se observa una menor frecuencia de sobrepeso (6.6 % vs.17.3 %) y de diabetes mellitus (3.3 % vs.5.8 %) (45).

El fenómeno más llamativo es el hallazgo de concentraciones más altas de triglicéridos (Tg), VLDL, ácidos grasos no esterificados (AGNE) o ácidos grasos libres, tanto en normales como en diabéticos y obesos. Esta mayor concentración de Tg y

AGNE en la altura la interpretamos como un fenómeno fisiológico de compensación energética relacionada a la menor glicemia y mayor utilización de glucosa existente, como consecuencia de la mayor sensibilidad a la insulina ocasionada por la hipoxia (46,47) y a la mayor secreción contra reguladora de hormonas hiperglicemiantes (48).

En nuestro país es cada vez más preocupante los elevados índices de aparición de eventos cardiovasculares en poblaciones jóvenes (20-40 años), es por ello el carácter de primordial que tienen estudios como éste que busca sacar a la luz pública la importancia de determinar los valores de perfil lipídico, sobre todo de colesterol total, HDL, LDL y Apo-B, como indicadores de riesgo coronario en las poblaciones estudiadas, para posteriormente tomar las medidas de prevención para cada caso. Asimismo, concientizar a la población de realizarse controles periódicos de perfil lipídico y riesgo coronario (índice LDL/HDL) para cada individuo.

En el presente estudio encontramos valores de Apo-B ligeramente incrementados en habitantes de altura (Cerro de Pasco) 109.39 mg/dL con respecto a los 106.3 mg/dL de los habitantes de nivel del mar (Lima). Esto se presume, debido a un ligero incremento también de los triglicéridos en los habitantes de Cerro de Pasco, probablemente producto de un mecanismo no esclarecido de compensación fisiológica en estos habitantes.

Por otro lado se aprecia también una menor concentración de LDL en Cerro de Pasco (100.02 mg/dL) con respecto a Lima (118.48 mg/dL), resultados que concuerdan con los encontrados por otros autores (49-51). Lo que haría suponer que están en función de los niveles de colesterol encontrados para ambas poblaciones.

Se conoce asimismo, que el índice LDL/HDL es un claro predictor de riesgo coronario (52), encontrando en nuestro estudio valores anormales-la literatura refiere

como anormales los valores de este índice por encima de 3.5, valor de referencia para el índice en cuestión- en un alarmante 29.17 % para la población de Lima y un 15.68 % de la población de Cerro de Pasco. Esto nos hace suponer que la población de Lima está en evidente peligro de padecer algún evento cardiovascular, en contraste la población de Cerro de Pasco estaría mejor protegidos contra este tipo de episodios.

## VI - CONCLUSIONES

- 1- Los niveles de Apo-B séricos encontrados en Cerro de Pasco (4340 m.s.n.m.) fueron de 109.39 mg% y en Lima (125 m.s.n.m.) fue de 106.3 mg%, lo que nos indica que en la altura se encuentra ligeramente incremento, pero sin significancia estadística.
- 2- Asimismo se establece una *relación directa* entre los niveles séricos de Apo-B y el Riesgo coronario determinadas para ambas poblaciones.
- 3- Los valores del índice de riesgo coronario para ambas poblaciones muestran claramente que la población de nivel del mar (Lima) está más expuesta a sufrir algún evento cardiovascular que las poblaciones de altura (Cerro de Pasco) quienes se encuentran mejor protegidos.

## VII – REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Simons LA.** Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease in 19 countries. Am J. Cardiol Bethesda, USA; Vol.57 pag.5-10, 1986 May 30.
2. **Desager JP.** Limitations of the predictive value for coronary vascular diseases of the plasma lipids and apoproteins AI, AII, B levels as measured before coronariography in 317 patients. En: Gennes JL. Latent dyslipoproteinemia and atherosclerosis. New York: Raven; 1984.
3. **Sorell L.** Cuantificación de la Apo-B con empleo de anticuerpos monoclonales como indicadores de riesgo aterogénico. Inter. y Biotecnol. 1991.
4. **Bazalar Mendoza L.** Niveles séricos de colesterol total, HDL cholesterol, LDL cholesterol y Triglicéridos en sujetos varones residentes a nivel del mar y gran altura. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Lima, 1990.
5. **Test Metodológico del Auto analizador Equipo HITACHI 902/904.** Para Latinoamérica (test de colesterol, triglicéridos, HDL-C, LDL-C, y Apo-B) 2001.
6. **Llanos Zavalaga F., Najar Trujillo N., Mayca Pérez J., Rosas Aguirre Angel.** Prevalencia de obesidad e hipercolesterolemia en la Facultad de Medicina de la UPOCH. Rev. Med. Hered.2001. 12:78-84.
7. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis. An update. N. Engl. J. Med. 1996; 314:488-500.
8. **Glagov S., Zarins C., Guiddens DP.** Hemodynamics and atherosclerosis insights and perspectives gained from studies of human arteries. Arch. Pathol. Lab. Med.1988; 112:1018-1031.



9. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature*; 362: 801-809.1993.
10. **Ross R.** Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115-126.
11. **Fuster V, Lewis A.** Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: Insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90: 2126.
12. **Falk E.** Plaque ruptura with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis. Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br. Heart J.* 1983; 50: 127-134.
13. **Glagov S.** Hemodynamic risk factors: Mechanical stress, mural architecture, medial nutrition and the vulnerability of arteries to atherosclerosis. En Wissler RW. Geer JC. Editores. *The pathogenesis of atherosclerosis.* Baltimore: Williams and Wilkins. 1972; pag. 164.
14. **Furchgott RF., Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acethylcholine. *Nature* 1980; 299: 373-376.
15. **De Graff J.C., Banga J.D., Moncada S., Palmer RM.** Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhetion Ander floor conditions. *Circulation* 1992; 85: 2284-2290.
16. **Gordon JB., Ganz P., Nabel EG. et al.** Atherosclerosis and endothelial function influence the coronary vasomotor response to exercise. *J. Clin. Invest* 1989; 83: 1946-1952.

- 17. Ludmer PL., Selwyn AP., Shook TL. et al.** Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986; 315: 1046-1051.
- 18. Leung WH., Lau CP., Wong CK.** Beneficial effect of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolemic patients. *Lancet* 1993; 341: 1496-1500.
- 19. Rajagopalan S., Harrison DG.** Reversing endothelial dysfunction. *Circulation* 1996; 94:240-243.
- 20. Owens GK.** Role of alterations in the differentiated state of smooth muscle cell in atherogenesis. En Fuster V., Ross R., Topol EJ. Editores. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996: p.401-420.
- 21. Jonasson L., Holm J., Skalli O., Bondjers G., Hansson GK.** Regional accumulation of T cells, macrophages and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 1986; 6: 131-138.
- 22. Rosenfeld ME., Ross R.** Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1990; 10: 680-687.
- 23. Woolf N., Davies N.** Arterial plaque and thrombus formation. *Sci. Med.* 1994; 38: 127-132.
- 24. Verhoef P., Meleady R., Daly LE., Gram. I.M., Robinson G. y Borres GHJ.** Homocysteine, vitamin status and risk of vascular disease. *European Heart J.* 1999; 20: 1234-1244.

- 25. Marín A., Marín J. y Marín E.** Aterosclerosis al día IV. Iván Soltero, Rodolfo Paoletti y Pedro Moreno Editores. Caracas. Ediciones Galénicas 2000: 219-239.
- 26. Soltero I. y Apitz R.** La homocisteína: un factor de riesgo ateroesclerótico. Causa o Efecto. Avances contra la aterosclerosis. Boletín de la AVA 1999: 13: 2-5.
- 27. Mohamed K., Phillippon H., Peter J., Antonella A., Rajiv A., Mark M y Lane DA.** Relationships between Homocysteine, Factor VIIIa and Thrombin Generation in Acute Coronary Syndromes. Circulation 2000; 101: 372-377.
- 28. Iftikhar J., Gerald T. y Jamil T.** Novel risk factors for atherosclerosis. Clin. Proc.2000; 75: 369-380.
- 29. Keijiro B., Kazuyuki S., Shiro J., Kasuhiko Y. and Kikuo A.** Hiperinsulinemic. Hipoalipoproteinémico as a new indicator for coronary heart disease. Journal of the American College of Circulation 1999; 34: 1443-1451.
- 30. Hanefeld M., Temelkova K., Schaper F., Henkel E., Siegert G. y Koehler C.** Impaired fasting glucose is not a risk factor for atherosclerosis. Journal article 1999; 16: 212-218.
- 31. Glueck C.J., Wang P., Fontaine RN., Tracy T., Steve-Smith L. y Lang J.E.** Effect of exogenous estrogens on atherothrombotic vascular disease risk related to the presence or absence of factor V Leiden mutation (resistance to activated protein C). J. Am. Coll. of Circulation 1999; 84: 549-554.
- 32. Bruckert E., Girard P., Chadarevian R. y Turpin G.** Low free thyroxine levels are a risk factor for subclinical atherosclerosis in euthyroid hyperlipidemic patients. Journal 1999; 06: 327-331.

- 33. Hingorani AD. Liang CF. Fatibene J. Lyon A. Monteith S. y Parson A. A**  
common variant of the endothelial nitric oxide synthetase (Glu 298—Asp) is a major  
risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999; 100: 1515-1520.
- 34. Renner SM., Massel D. y Moon BC.** Mediastinal irradiation: A risk factor for  
atherosclerosis of the internal thoracic arteries. *Journal Article* 1999; 15: 597-600.
- 35. Merja R., Maarit V., Timo P., Petri T., Maija L. y Pekka S.** Infections,  
inflammation and the risk of coronary Heart disease. *Circulation*. 2000; 25:252-256.
- 36. Ville V. Valtonen.** Role of infections in atherosclerosis. *American Heart Journal*  
1999; 138: 431-433.
- 37. Brian Chiu.** Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *American Heart*  
*Journal* 1999; 138: S534-S536.
- 38. Byrne G. y Kalayoghi M.** *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. Links to the  
disease process. *American heart Journal*. 1999; 138: 488-490.
- 39. Kusters J. y Kuipers E.** Helicobacter and atherosclerosis. *American Heart Journal*.  
1999; 138: 523-526.
- 40. Nicholson A. y Hajjar D.** Viral activation of the coagulation cascade. *American*  
*Heart Journal*. 1999; 138: 461-463.
- 41. Beck J.D., Pankow J., Tyroler HA. Y Offenbach S.** Dental infections and  
atherosclerosis. *American Heart Journal* 1999; 138: 528-533.
- 42. Ricardo Vásquez Ballona.** Importancia de las Lipoproteínas. 2003. Disponible en:  
<http://www.ilustrados.com.htm>.
- 43. Test Metodológico del Auto analizador Equipo HITACHI 902/904.** Para  
Latinoamérica. 2001 (test de colesterol, triglicéridos, HDL-C, LDL-C, y Apo-B).

- 44. Sobrevilla L.** Cambios endocrinológicos en la vida de las grandes alturas. Rev. Diálogo Médico. Nov. 1986.
- 45. Garmendia F., Urdanivia E., Torres J., Tamayo R., Arévalo C.** Efecto de la Tolbutamida sobre la concentración de insulina, cortisol y hormona del crecimiento en la altura. 8vo Congreso Panamericano de Endocrinología. Pag.13 Bs. As. Argentina 1974.
- 46. Glagov S.** Hemodynamic risk factors: Mechanical stress, mural architecture, medial nutrition and the vulnerability of arteries to atherosclerosis. En Wissler RW. Geer JC. Editores. The pathogenesis of atherosclerosis. Baltimore: Williams and Wilkins. 1972; pag. 164.
- 47. Glagov S., Zarins C., Guiddens DP.** Hemodynamics and atherosclerosis insights and perspectives gained from studies of human arteries. Arch. Pathol. Lab. Med.1988; 112: 1018-1031.
- 48. Glueck C.J., Wang P., Fontame RN., Tracy T., Steve-Smith L. y Lang J.E.** Effect of exogenous estrogens on atherothrombotic vascular disease risk related to the presence or absence of factor V Leiden mutation (resistance to activated protein C). J. Am. Coll. of Circulation 1999; 84: 549-554.
- 49. Braunwald E.** Cardiovascular Medicine at the turn of the millennium triumphs and opportunities. N Engl. J Med. 1997; 337: 1360-1369.
- 50. Álvarez León EE., Rivas Barba L., Serra Majem L.** Prevalencia del Síndrome metabólico en la población de las Islas Canarias, España. Med. Clin. (Barcelona).2003; 120: 172-174.

- 51. Beck J.D., Pankow J., Tyroler HA. y Offenbach S.** Dental infections and atherosclerosis. American Heart Journal 1999; 138: 528-533.
- 52. Iftikhar J., Gerald T. y Jamil T.** Novel risk factors for atherosclerosis. Clin. Proc.2000; 75: 369-380.

## ANEXO Nº 1

NIVELES LIPIDICOS (mg/dL) ENCONTRADOS EN HABITANTES DEL NIVEL DEL MAR LIMA 25 m.s.n.m.						
#	COLEST.	HDL	LDL	VLDL	TG	APO-B
1	118	30	85	15	58	80
2	110	21	80	16	56	75
3	205	26	115	38	116	102
4	182	29	87	40	164	79
5	199	21	100	42	158	86
6	109	37	66	9	47	51
7	232	35	104	51	118	88
8	200	58	100	49	115	80
9	174	31	77	75	142	69
10	251	36	105	61	175	94
11	199	61	86	80	105	73
12	284	60	195	65	220	178
13	251	37	170	60	110	155
14	174	32	85	76	104	77
15	301	39	200	71	367	184
16	129	43	44	21	88	44
17	181	29	90	53	95	81
18	214	28	120	58	118	110
19	144	48	55	33	90	46
20	209	51	123	44	183	105
21	227	55	154	55	205	140
22	196	25	111	75	175	90
23	245	51	172	60	186	159
24	281	60	190	68	285	146
25	155	22	91	33	105	85
26	167	59	95	38	65	88
27	171	63	114	42	65	100
28	304	57	201	73	244	190
29	203	28	105	50	141	93
30	200	33	91	51	105	78
31	190	40	79	43	70	78
32	158	35	90	38	69	81
33	161	55	91	34	87	76
34	185	28	109	45	95	93
35	152	24	58	40	88	48
36	159	56	61	40	113	49
37	241	29	102	60	201	91
38	186	59	83	57	129	70
39	128	28	71	22	45	59
40	173	56	90	54	112	86
41	193	24	101	61	134	88
42	264	36	123	70	253	114
43	221	63	108	66	204	105
44	183	62	87	58	245	82
45	288	30	155	71	321	145
46	215	43	152	64	110	141
47	164	29	95	39	98	83
48	121	40	70	25	73	65

ANEXO 4

RELACION LDL/HDL PARA LOS HABITANTES DEL NIVEL DEL MAR - Lima 25 m.s.n.m.			
#	HDL	LDL	LDL/HDL
1	30	85	2.83
2	21	80	3.81
3	26	115	4.42
4	29	87	3
5	21	100	4.76
6	37	66	1.78
7	35	104	2.97
8	58	100	1.72
9	31	77	2.48
10	36	105	2.91
11	61	86	1.4
12	60	195	3.25
13	37	170	4.59
14	32	85	2.65
15	39	200	5.12
16	43	44	1.02
17	29	90	3.1
18	28	120	4.29
19	48	55	1.15
20	51	123	2.41
21	55	154	2.8
22	25	111	4.44
23	51	172	3.37
24	60	190	3.17
25	22	91	4.14
26	59	95	1.61
27	63	114	1.81
28	57	201	3.52
29	28	105	3.75
30	33	91	2.76
31	40	79	1.98
32	35	90	2.57
33	55	91	1.65
34	28	109	3.89
35	24	58	2.42
36	56	61	1.09
37	29	102	3.52
38	59	83	1.4
39	28	71	2.53
40	56	90	1.61
41	24	101	4.21
42	36	123	3.42
43	63	108	1.71
44	62	87	1.4
45	30	155	5.17
46	43	152	3.54
47	29	95	3.28
48	40	70	1.75

$$14/48*100=29.17\%$$